REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE
Tome 79, fasc. 2, n° 19: 613-647. — Septembre 1972

Die Histogenese der Segment- und Kiemenregeneration von Branchiura sowerbyi Beddard

von

Annemarie SCHAFFNER-MÜHLETHALER

Mit 15 Textabbildungen und 1 Tafel

A. EINLEITUNG

Branchiura sowerbyi Beddard ist ein zur Familie der Tubificidae gehörender Oligochät, der im Kiesgrund von stehenden Gewässern lebt. Der Wurm wurde erstmals von Beddard (1892) beschrieben. Da sich sein Auftreten zunächst auf Warmwasserbecken botanischer Gärten beschränkte, muss angenommen werden, dass er mit Wasserpflanzen aus Asien in Europa eingeschleppt wurde. 1963 wurde *Branchiura* erstmals im unteren Becken des Zürichsees gefunden und von Kubli (1964) bearbeitet.

Michaelsen (1908) und Keyl (1913) verdanken wir detaillierte anatomische Darstellungen, während Pankow (1969) und Leutert (1970) sich in neuerer Zeit mit der Embryologie auseinandergesetzt haben.

Branchiura unterscheidet sich von allen anderen Tubificidae durch den Besitz von filiformen Pseudokiemen, von denen je eine auf der ventralen und dorsalen Seite der hinteren Körpersegmente entspringt. Der kiementragende Teil des Körpers des im Sand eingegrabenen Wurmes ragt über das Substrat hinaus und wird rhythmisch hin und her bewegt.

Bei adulten Würmern variiert die Zahl der Körpersegmente und Kiemenpaare stark. Bei frisch gefangenen Tieren sind durchschnittlich 60—80 Kiemenpaare vorhanden, aber der Anteil der kiementragenden Segmente bezogen auf die Gesamtzahl der Körpersegmente kann zwischen 10% und 50% schwanken. Die Ursachen für diese Variabilität sind im einzelnen nicht bekannt. Bei akutem

Sauerstoffmangel entstehen nach LINDENMANN (1966) zusätzliche Kiemen in Segmenten, die vor dem kiementragenden hinteren Körperabschnitt liegen. Die Kiemen können aber auch, von vorn beginnend, rasch wieder resorbiert werden. Nach meinen Beobachtungen führt Futtermangel (S. 615) zur Resorption sämtlicher Kiemen. Diese werden jedoch innerhalb einer Woche neugebildet, wenn den Tieren futterreiches Substrat angeboten wird. Futtermangel dürfte auch der Grund dafür sein, dass im Labor gehaltene Würmer kürzer und dünner werden (SPENCER, 1932).

Wie NAKAMURA (1940) gezeigt hat, entstehen nach Amputation der Kiemensegmente in Segmenten, die vor der Amputationsstelle liegen, sogenannte Sekundärkiemen, die später, wenn die teloblastische Regeneration der amputierten Segmente erfolgt ist, wieder resorbiert werden.

Die Entwicklung dieser Pseudokiemen kann demzufolge von verschiedenen Voraussetzungen ausgehen: 1. Sie entstehen an embryonalen Segmenten und später im Rahmen des teloblastischen Längenwachstums des adulten Wurmes aus jungen, sich am hinteren Körperende differenzierenden Segmenten. 2. Im Falle der auf eine Amputation erfolgenden Regeneration entstehen sie in Form von Sekundärkiemen aus voll differenzierten Segmenten der mittleren Körperregionen. Dies trifft auch zu, wenn aus irgend einem Grund, z.B. Sauerstoffmangel, die Zahl der Kiemenpaare erhöht wird.

In dieser Arbeit wird die Histodynamik dieser von unterschiedlichen Situationen ausgehenden Kiemenentwicklung vergleichend untersucht. Gleichzeitig wird auch der Vorgang der Kiemenresorption sowie die teloblastische Regeneration kiementragender Körpersegmente beschrieben.

Meinem Lehrer, Herrn Prof. Dr. P. Tardent, danke ich für die Unterstützung und Leitung der Arbeit.

B. MATERIAL UND METHODE

Die für die Untersuchungen verwendeten *Branchiura sowerbyi* Beddard wurden an verschiedenen Uferstellen des unteren Zürichseebeckens in einer Wassertiefe von 50—120 cm gesammelt (PANKOW, 1969; LEUTERT, 1970). Der Sand, in dem die Würmer leben, ist grobkörnig und mit feinem Schlamm durchsetzt und überschichtet. Die mit einer Schaufel entnommenen Sandproben wurden in flachen Becken geschüttelt; dabei verlassen die Würmer das Substrat und können mit Hilfe einer Pipette unverletzt isoliert werden.

Im Labor wurden die Tiere einzeln in Plastikbechern (150 ml) gehalten, deren Boden 2—3 cm hoch mit dem Sand von der Fundstelle bedeckt war. Das ebenfalls vom Fundort stammende Wasser wurde wöchentlich, der Sand einmal pro Monat

gewechselt. Mit diesem periodischen Angebot an frischem, ungereinigtem Sand konnte der normale Nahrungsbedarf der Tiere gedeckt werden, sodass sich eine Fütterung erübrigte. Die Tiere wurden bei 18° C im Halbdunkel gehalten.

Die Amputationen an narkotisierten Tieren (0,1—0,2% Chloreton) wurden in Wachsschalen unter dem Binokular durchgeführt. Als Instrument diente ein in einen ausgezogenen Glasstab eingeschmolzenes Rasierklingenfragment. Nach Amputation wurden die Tiere wieder in die Becher zurückversetzt und mindestens 1 mal täglich in narkotisiertem Zustand kontrolliert. Dabei wurden jeweils Zahl und Ausbildungsgrad der Sekundärkiemen und die Zahl der regenerierten, kiementragenden Segmente protokolliert.

Die für die histologischen Untersuchungen bestimmten Würmer mussten 16—24 Stunden vor Fixation in Schalen übergeführt werden, die keinen Sand enthielten. Diese Massnahme erwies sich als notwendig, weil die im nicht entleerten Darm enthaltenen Sandkörner die Herstellung sauberer histologischer Schnitte verunmöglichen.

Die amputierten Stücke wurden in Bouin oder Glutaraldehyd fixiert, in Paraplast eingebettet, 4—6 μ dick geschnitten und mit Hämalaun-Eosin nach P. Mayer gefärbt (Romeis, 1948).

C. ANORDNUNG UND BAU DER NORMALEN PSEUDOKIEMEN

Ein frisch geschlüpfter Wurm gliedert sich in 70—75 Segmente, von denen etwa die hintersten 20, d.h. 25—33% aller Segmente, je ein Kiemenpaar tragen (Abb. 1). Im Rahmen des teloblastischen Längenwachstums erscheinen neue Kiemen an den jungen, noch nicht ganz ausdifferenzierten Segmenten, die sich direkt vor der am hinteren Körperende liegenden Wachstumszone befinden. Die totale Kiemenzahl nimmt jedoch nicht im gleichen Mass zu wie die Segmentzahl, da die Kiemen der vordersten Kiemensegmente laufend resorbiert werden. Die Kiemen, die im ausgestreckten Zustand 1—2 mal so lang sind wie der Durchmesser ihres Segments, entspringen in der hinteren Segmenthälfte und stehen in einem Winkel von 60° nach hinten geneigt ab (Abb. 2 und 3).

Die voll entwickelte Kieme ist eine filiforme, mit lockerem Mesenchym angefüllte Epidermisausstülpung, die von feinen Kapillaren durchzogen ist. Ihre Längsmuskulatur, die als äusserst dünne Schicht unter der Kiemenepidermis angeordnet ist, setzt sich aus Fasern zusammen, die sich von der Ringmuskulatur des Hautmuskelschlauches ableiten lassen (Keyl, 1913). Eine Kiemen-Ringmuskulatur fehlt.

Der aus Epidermis, Ring- und Längsmuskulatur aufgebaute Hautmuskelschlauch der Körpersegmente ist im vorderen Körperabschnitt des adulten

Wurmes 2—3 mal dicker als hinten. Die Längsgefässe verlaufen vom 12. Segment an beide ventral, das grössere Dorsalgefäss liegt auf der linken Körperseite, das Ventralgefäss rechts über dem Bauchmark (Abb. 2). Beide sind segmental durch 2 Ringgefässe miteinander verbunden.

An der Basis der Kieme lässt die Längsmuskulatur des Segments eine Lücke frei, durch die Blutgefässe in die Kieme eintreten (Michaelsen, 1908) und durch die auch Mesenchymzellen ein- und auswandern können.

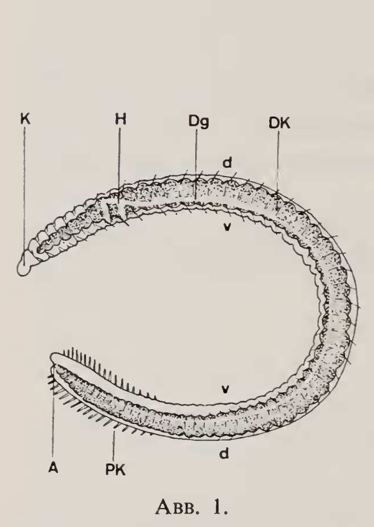


Abb. 1.

Branchiura sowerbyi:
Frisch geschlüpfter Wurm mit 65 Segmenten, davon 18 mit Pseudokiemen. Vergr.: 20 × (A: Anus, Dg: Dorsalgefäss, DK: Darmkanal, H: zwei stark erweiterte Ringgefässe (Herzen), K: Kopf, PK: Primärkiemen, d: dorsal, v: ventral) Umgezeichnet nach Pankow, 1968.

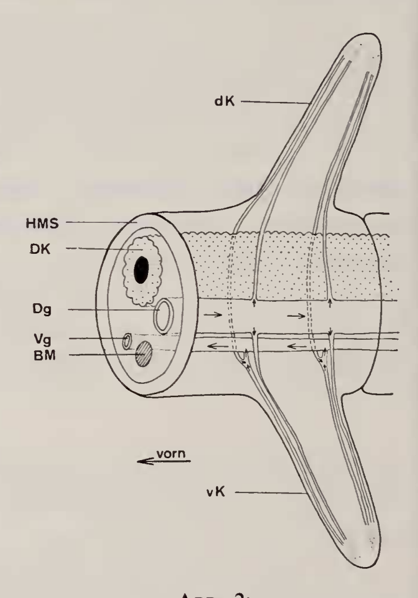


Abb. 2.

Schematische Darstellung des Blutkreislaufs in einem Kiemensegment von *Branchiura sowerbyi.* Vergr.: 300 ×. Die Pfeile geben die mutmassliche Flussrichtung an. (BM: Bauchmark, Dg: Dorsalgefäss, DK: Darmkanal, dK: dorsale Kieme, HMS: Hautmuskelschlauch, vK: ventrale Kieme.)

Nach Beddard (1892) wird die Kieme nur vom hinteren Ringgefäss des Segments versorgt, das in der Kieme eine Schlaufe bilden soll. Nach meinen Beobachtungen übernehmen die Kiemenkapillaren das Blut von beiden Ringgefässen (Abb. 2). Der Verlauf der Kapillargefässe in der Kiemenspitze liess sich der Feinheit der Kapillaren wegen mit histologischen Methoden nicht genau rekonstruieren. Vermutlich steht je ein Zweig des Dorsalgefässes mit einer Verästelung des Ventralgefässes in Verbindung. Sicher ist, dass die parallel zur Längsachse der Kieme verlaufenden Hauptgefässe über ein reich verzweigtes Kapillarnetz miteinander in Verbindung stehen.

D. ONTOGENESE DER KIEMEN

Unter natürlichen Bedingungen erstreckt sich die Fortpflanzungsperiode von *Branchiura sowerbyi* von Mai bis Oktober. PANKOW (1969) hat Legetätigkeit und

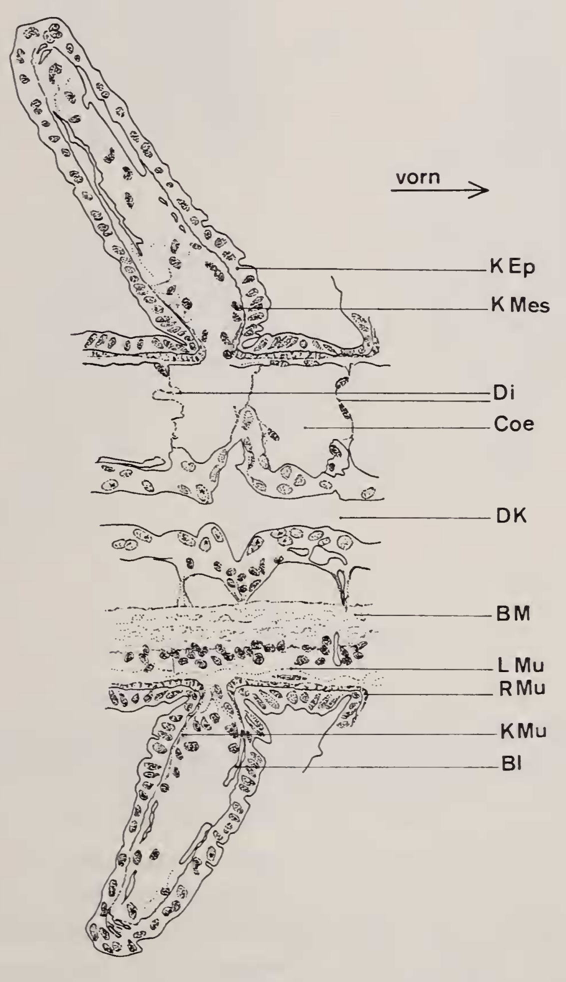


ABB. 3.

Histologischer Längsschnitt durch ein Kiemensegment eines adulten Wurmes. Vergr.: 350 ×. (Bl: Blutgefäss, BM: Bauchmark, Coe: Coelom, Di: Dissepiment, DK: Darmkanal, KEp: Kiemenepidermis, KMes: Kiemenmesenchym, KMu: Kiemenmuskulatur, LMu: Längsmuskulatur, RMu: Ringmuskulatur.)

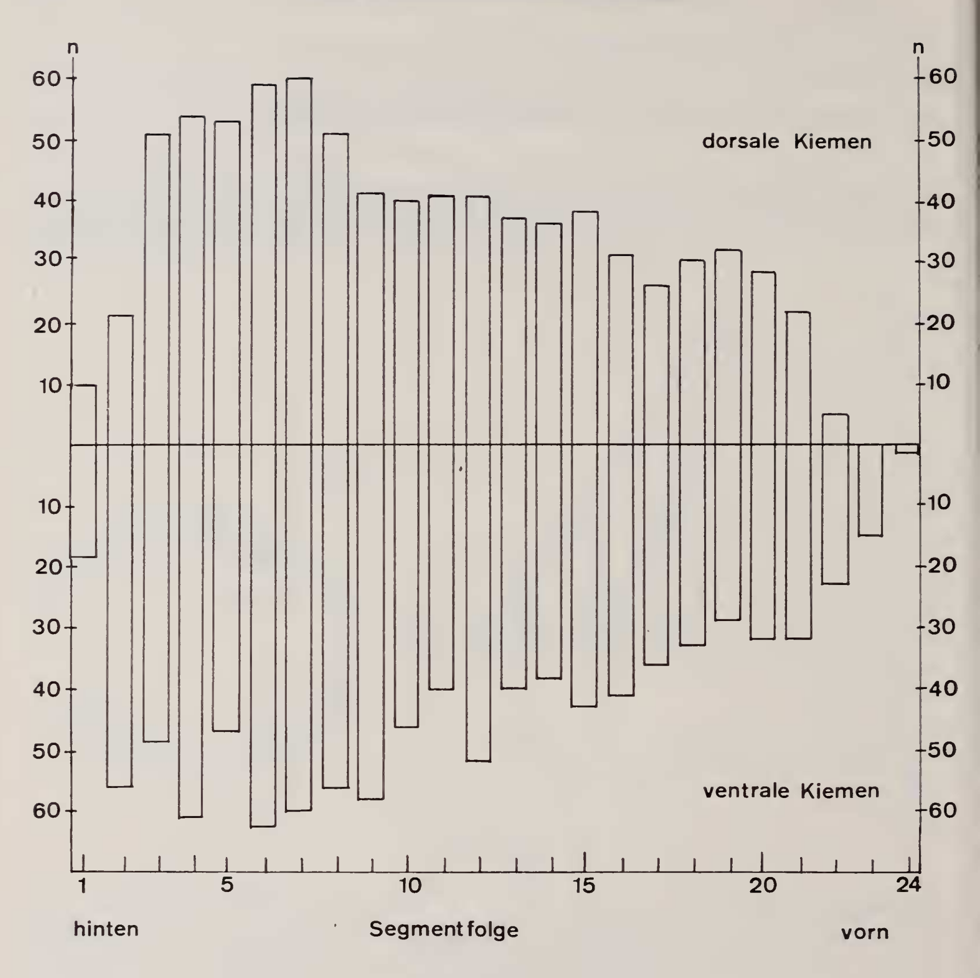


Abb. 4.

Grösse der ventralen und dorsalen Kiemen eines frisch geschlüpften Wurmes ermittelt an der Zahl (n) der im Innern der Kiemen vorhandenen Mesenchymzellen. (Auswertung von Serienschnitten.)

Embryonalentwicklung eingehend beschrieben. Meine Beobachtungen beschränken sich auf 8 im Mai und Juni 1967 geschlüpfte Jungtiere, deren Körperlänge knapp 1 cm erreichte. Die Segmentzahl dieser Tiere schwankte zwischen 70 und 79, wobei die hintersten 19—25 Segmente beim Schlüpfen schon kleine Kiemen trugen, deren Länge den Durchmesser des Segments nicht übertraf.

Abbildung 4 gibt die Zahl und die Grösse der Kiemen eines frisch geschlüpften Wurmes wider. Die Dimensionen der einzelnen Kiemen wurden in Serienschnitten aufgrund der Zahl der vorhandenen Mesenchymzellen ermittelt, da sich Längenmessungen, der starken Kontraktilität wegen, als undurchführbar erwiesen.

Das teloblastische, postembryonale Wachstum, d.h. die Neubildung von Segmenten, erfolgt unter Laboratoriumsbedingungen langsam, wobei die Zuwachsrate von Individuum zu Individuum variiert. Bei frisch geschlüpften Tieren

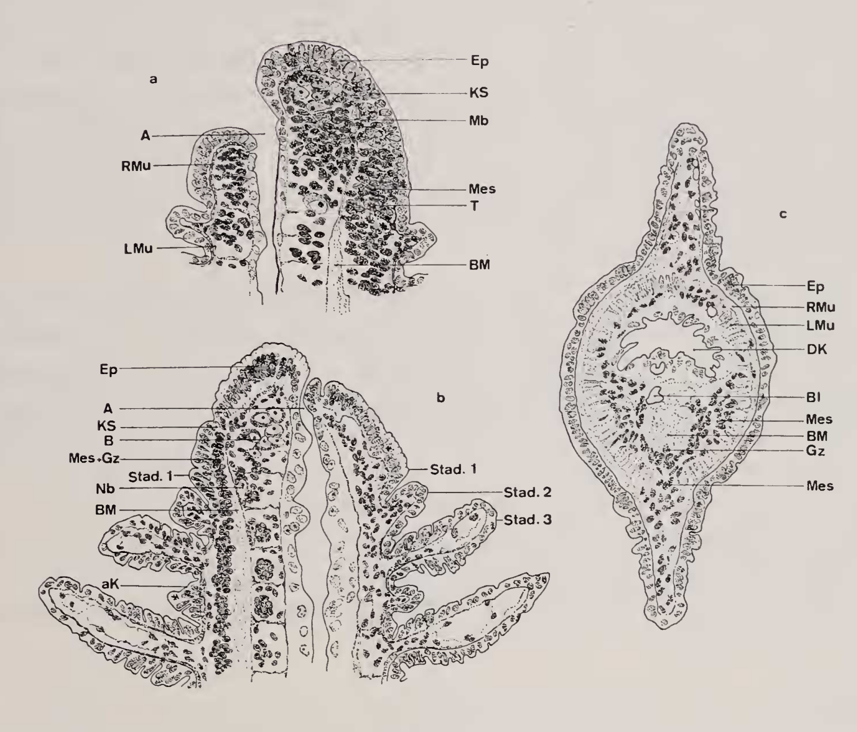


ABB. 5.

a. Sagittalschnitt durch die Wachstumszone (Hinterende) eines frisch geschlüpften Wurmes. Vergr.: 640 ×.
b. Sagittalschnitt durch die Wachstumszone (Hinterende) eines adulten Wurmes. Vergr.: 450 ×.
c. Querschnitt durch ein kiementragendes Segment eines frisch geschlüpften Wurmes. Das Coelom ist noch nicht ausgebildet. Vergr.: 540 ×. (A: Anus, aK: angeschnittene Kieme, Bl: Blutgefäss, B: Blastem, BM: Bauchmark, DK: Darmkanal, Ep: Epidermis, Gz: Ganglienzellen, KS: Kontaktstelle zwischen Epidermis und Bauchmark, LMu: Längsmuskulatur, Mb: Mesoblasten, Mes: Mesenchymzellen, Nb: Neoblast, RMu: Ringmuskulatur, T: Teilungsbilder.)

schwankt die Zahl der monatlich neugebildeten Körpersegmente zwischen 3 und 10.

Für die histologische Bearbeitung der Kiemen-Ontogenese wurden frisch geschlüpfte Jungtiere fixiert. Ihr Hautmuskelschlauch ist in diesem Stadium noch dünn; die beiden zunächst noch gleich dicken Muskelschichten sind aber bereits deutlich gegeneinander abgegrenzt (Abb. 5*a*). Im Laufe der nun folgenden Entwicklung nimmt vor allem die Längsmuskelschicht an Umfang zu (Abb. 5*c*), und

dies hauptsächlich in den vorderen Körpersegmenten, wo sie beim adulten Wurm 2—3 mal dicker ist als in den hinteren Segmenten.

Längs- und Ringmuskulatur reichen beim frisch geschlüpften Wurm bis auf die Höhe des sich dorsal öffnenden Anus. Die teloblastische Bildungszone liegt im ventralen Teil der hintersten Körperspitze. Dieser Bereich ist beim Jungtier angefüllt mit Mesoblasten (Abb. 5*a*, Tafel I*a*). Es sind dies basophile Zellen mit einem ovalen Kern und wenig Cytoplasma. Dieser Zellverband ist von einer zT. mehrschichtigen Epidermiskappe überzogen, die sich von den Mesoblasten nicht immer klar abgrenzen lässt; dies ganz besonders im ventro-medianen Bereich, wo das Bauchmark auf Kosten einwandernder Epidermiszellen entsteht (HAASE, 1898; KORSCHELT, 1927). Diese Region wird in dieser Arbeit als „Kontaktstelle“ bezeichnet (Abb. 5*a* und *b*, KS).

Das junge Segment hat, wenn die Kiemenentwicklung einsetzt, weitgehend den Differenzierungszustand eines fertigen Segments erreicht. Es ist allerdings noch kürzer (vergl. die hintersten 4 Segmente auf Tafel I*a*), und seine Mesenchymzellen sind noch auf kleinem Raum um den Darmkanal herum zusammengedrängt. Die Dissepimente sind dorsal auch schon im jüngsten Segment deutlich erkennbar, während ventral die Zellmassen des Mesenchyms der beiden hintersten Segmentanlagen ohne sichtbare Grenzen ineinander übergehen (Tafel I*a*). Vom drittletzten Segment an nach vorn erscheinen die Dissepimente auch auf der Ventralseite des Darmrohres.

Die Ontogenese der Kiemen lässt sich in die folgenden 3 Stadien unterteilen (Abb. 5*b*, Tafel I*a*):

Stadium 1

Im ventralen Bereich der Epidermis, etwas vor der erwähnten Kontaktstelle von Epidermis und Bauchmark, tritt eine höckerartige Erhebung auf, die dadurch zustande kommt, dass sich die Epidermiszellen konzentrisch zusammenschieben (Abb. 5*b*). Dieser epidermale Höcker mit seinen verlängerten Kernen wird von dicht stehenden Mesenchymzellen unterlagert. Schon in diesem Stadium wie auch in den zwei folgenden sind in der Kiemenepidermis Mitosen zu finden.

Stadium 2

Die dorsale und ventrale Kiemenanlage verlängert sich nun senkrecht zur Körperlängsachse. Die Kerne der prospektiven Kiemenepidermis nehmen wieder eine rundliche Form an, während die Epidermiszellen selber sich weiter strecken (Abb. 5*a*, *b*). In den entstehenden Innenraum des Kiemenfilaments wandern Mesenchymzellen ein, die aus dem ventralen Bereich des Segments stammen. Im Innern der Kieme erscheinen die ersten differenzierten Muskelfasern und Blutlakunen.

Stadium 3

Auf der Dorsalseite sind fast alle Mesenchymzellen, die zu Beginn der Kiemenentwicklung noch über dem Darmkanal lagen, in die Kieme eingewandert (Tafel I*a*), sodass sich der dorsale Teil des Segments entleert, wobei das Coelom erstmals sichtbar wird. Der epidermale Teil der Kieme wächst weiter in die Länge. Die im Innern der Kieme zunächst dicht gedrängten Mesenchymzellen werden aufgelockert und lagern sich an die Innenseite der Epidermis an. Bei der ventralen Kiemenanlage erfolgt die Einwanderung der Mesenchymzellen gleich, doch dringen nicht sämtliche im ventralen Bereich vorhandenen Mesenchymzellen in die Kieme ein. Ein Teil bleibt in der Umgebung des Bauchmarks zurück (Abb. 5*c*, Mes).

Das teloblastische Längenwachstum des adulten Wurmes nimmt denselben Verlauf wie hier für den frisch geschlüpften Wurm beschrieben wurde. Dabei werden laufend in den vordersten Kiemensegmenten wieder Kiemen resorbiert. Die diesen Resorptionsvorgang begleitenden histodynamischen Vorgänge sind gleich wie diejenigen, die sich bei der Resorption der Sekundärkiemen abspielen (S. 624).

E. ENTSTEHUNG UND RESORPTION DER SEKUNDÄRKIEMEN

a. Allgemeines

Zur Bildung von sogenannten Sekundärkiemen kommt es, wenn alle oder ein Teil der Kiemensegmente des Wurmes amputiert werden (Nakamura, 1940). Die der Amputationsstelle vorgelagerten Segmente bilden im Sinne einer Übergangslösung innert weniger Stunden Kiemen, die später wieder resorbiert werden, wenn durch den an der Amputationsstelle einsetzenden Regenerationsprozess eine Anzahl neuer Segmente gebildet worden ist (Abb. 6).

Sekundärkiemen entstehen an ursprünglich kiemenlosen Segmenten auch dann, wenn Segmentgruppen aus der vorderen Körperregion isoliert werden (Nakamura, 1940). In kiemenlosen Segmenten kann die Entwicklung von Sekundärkiemen ausserdem experimentell durch Implantation von Ober- oder Unterschlundganglion induziert werden (Lindenmann, 1966).

Wie Nakamura (1940) mit Hilfe seiner Isolationsexperimente zeigt, nimmt die Fähigkeit zur Sekundärkiemenbildung von hinten nach vorn progressiv ab, wobei nicht nur die Zahl der entstehenden Sekundärkiemen abnimmt, sondern sich auch deren Entwicklungsgeschwindigkeit verringert. Nach seinen Beobachtungen sind die vor dem 14. Körpersegment liegenden Segmente überhaupt nicht mehr in der Lage, Sekundärkiemen zu bilden.

Abbildung 7 veranschaulicht die Bildung resp. die Resorption der Sekundärkiemen sowie die regenerative Entstehung neuer Primärkiemen. Schon 16 Stunden nach Amputation treten in den der Schnittstelle vorgelagerten, ursprünglich kiemenlosen Segmenten die ersten Sekundärkiemen auf; in den hintersten

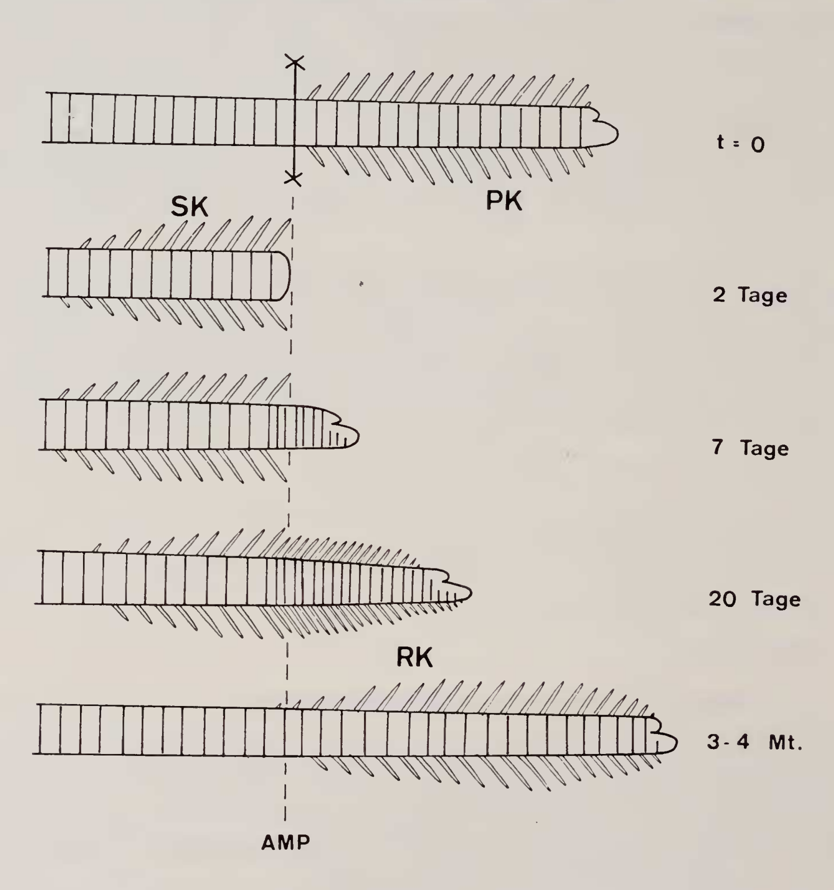


Abb. 6.

Schematische Darstellung des Regenerationsverlaufs nach Amputation der kiementragenden Segmente.
(AMP: Amputationsniveau, SK: Sekundärkiemen, RK: regenerierte Kiemen.)

15—20 Segmenten entwickeln sie sich fast gleichzeitig. Die maximale Zahl (30—50 Sekundärkiemen) wird 5—10 Tage nach Amputation erreicht. Am 10. oder 11. Tag treten dann an den teloblastisch regenerierten Segmenten die ersten Kiemen auf, deren Zahl von diesem Zeitpunkt an rasch ansteigt (Abb. 7). Gleichzeitig setzt, von vorn beginnend, die Resorption der Sekundärkiemen ein. Da diese langsamer verläuft als die regenerative Neubildung von Kiemen, steigt die Gesamtzahl der Kiemen bis etwa zum 30. postoperativen Tag weiterhin an (Abb. 7) und

kann den Ausgangswert überschreiten. Der Normalbestand von 60—80 funktionstüchtigen Kiemenpaaren wird später durch ein regulatorisches Gleichgewicht von Regeneration und Resorption aufrecht erhalten.

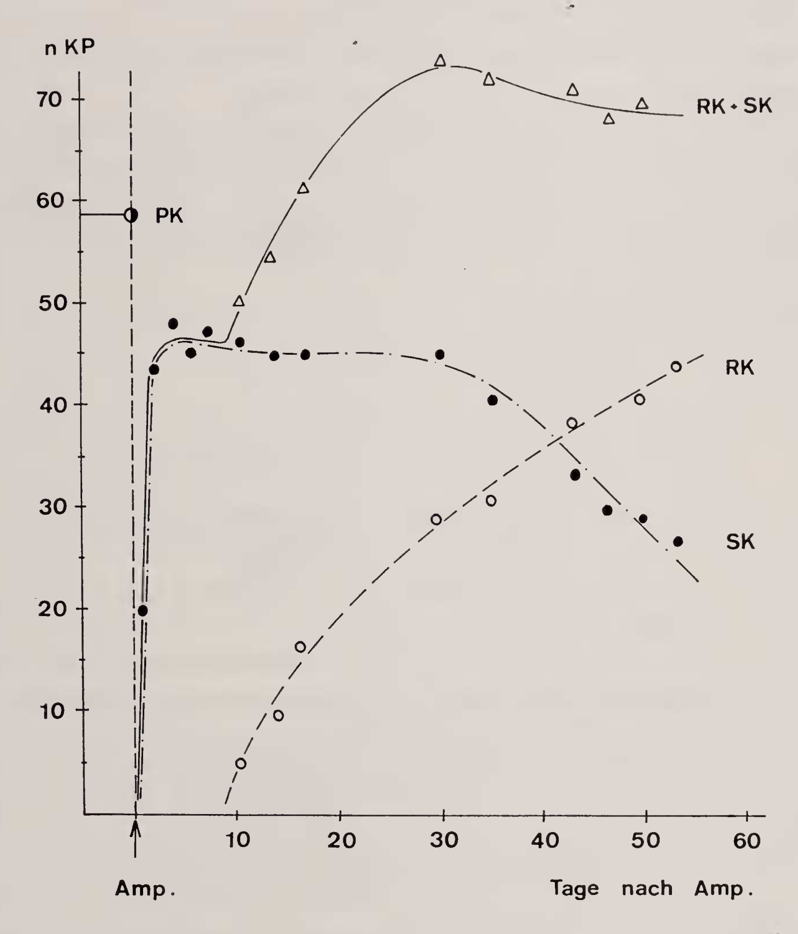


ABB. 7.

Verlauf der Bildung resp. Resorption von Sekundärkiemen und der regenerativen Neubildung von Primärkiemen nach Amputation der letzten 58 kiementragenden Segmente (ausgewählter Einzelfall). (Amp: Zeitpunkt der Amputation, nKP: Zahl der Kiemenpaare, PK: Zahl der Kiemenpaare vor Amputation, RK: regenerierte Kiemenpaare, SK: Sekundärkiemenpaare.)

Der Zeitpunkt des Auftretens von Kiemen in den hintersten Segmenten unterliegt grossen individuellen Schwankungen. Die ersten äusserlich sichtbaren Anzeichen von Sekundärkiemen konnten schon 10 Stunden nach Amputation beobachtet werden; meistens beträgt das Intervall zwischen Amputation und Kiemenbildung 16—24 Stunden. Ein späteres Auftreten der Sekundärkiemen ist oft mit einer abnormen Regeneration verbunden (siehe unten).

b. Histogenese der Sekundärkiemen

Die für die histologische Untersuchung der Sekundärkiemenbildung bestimmten Tiere wurden wie folgt vorbehandelt:

1. In einer ersten Versuchsserie wurden nach Amputation sämtlicher kiementragender Segmente je 2—4 regenerierende Würmer 1, 2, 4, 6, 8, 10, 16, 25, 44 Stunden und 7, 14, 18, 30 Tage nach Amputation für histologische Untersuchungen fixiert. Zu diesem Zweck wurden die hintersten 10—20 Segmente vom vorderen Teil des Wurmes abgetrennt. Das Isolat umfasste also diejenigen Segmente, in denen Sekundärkiemen in Bildung resp. Rückbildung begriffen waren sowie die nach der Amputation teloblastisch regenerierten Segmente.
2. In einer weiteren Versuchsserie, in der die mit der Kiemenbildung verbundene Veränderung der Mitoseraten festgestellt werden sollte, wurden die regenerierenden Würmer jeweils 16 Stunden vor Fixation mit einer 0,001% igen Colcemidlösung behandelt. Als Kontrollen dienten Tiere, die im Zeitpunkt 0, d.h. unmittelbar nach Amputation der Kiemensegmente, fixiert wurden. Je 2—4 Tiere wurden nach Regenerationszeiten von 16, 24, 32, 40, 48, 56, 64, 72, 80, 88, 104, 120, 136 Stunden fixiert, wobei der Fixation stets eine Colcemidbehandlung von 16 Stunden vorausgegangen war.
3. Im weiteren wurden noch Tiere fixiert, die während der ganzen Regenerationsdauer von 72 resp. 96 Stunden einer 0,001% igen Colcemidbehandlung unterzogen worden waren. Die histologische Untersuchung dieser Objekte zeigte, dass die Amputationswunde wohl verschlossen wird und kleine, mit zahlreichen Mesenchymzellen gefüllte Sekundärkiemen entstehen, dass Neoblasten aktiviert werden, sich von den Dissepimenten lösen und sich vereinzelt mitotisch teilen, dass aber die Segmentregeneration auf einem frühen Stadium zum Stillstand kommt.

In allen Serien war die Regeneration häufig verzögert oder abnorm. Besonders die zweite lieferte im Sinne der soeben erwähnten Anomalien bis 50% Fehlentwicklungen, die sicher teilweise auf die Wirkung des Colcemids zurückzuführen sind.

Die Histogenese der Sekundärkiemen nimmt einen etwas anderen Verlauf als die ontogenetische Kiemenentwicklung. Es lassen sich jedoch auch hier 3 Phasen voneinander abgrenzen, die sowohl für die dorsalen, wie auch für die ventralen Kiemen gelten:

Stadium 1

Die ersten mikroskopisch sichtbaren Anzeichen der einsetzenden Sekundärkiemenbildung manifestieren sich im Mesenchym der 15—20 Segmente, die vor der Amputationsstelle liegen: In der hinteren Segmenthälfte unter der Epidermis

häufen sich 2 Stunden nach Amputation Mesenchymzellen an (Abb. 8*a*). Sie gruppieren sich dicht um das hintere segmentale Ringgefäss, das vom Stadium 2 an, zusammen mit dem vorderen Ringgefäss, die entstehenden Kiemen mit Blut versorgen wird. Die Epidermis zeigt, wenn am lebenden Tier mit der Lupe untersucht, noch keine Veränderungen. Auf histologischen Präparaten lässt sich jedoch

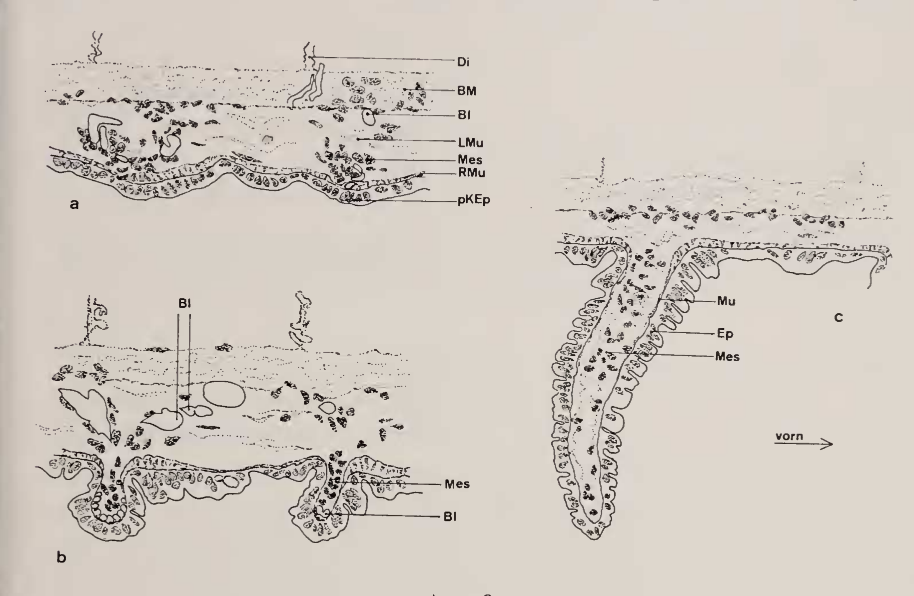


ABB. 8.

Längsschnitt durch 3 aufeinanderfolgende Stadien der Sekundärkiemenbildung.
Vergr.: 430 ×.
a. 2 ventrale Anlagen von Sekundärkiemen (Stadium 1).
b. 2 ventrale Anlagen (Stadium 2).
c. voll ausgebildete Sekundärkieme (Stadium 3).
(Bl: angeschnittene Blutgefässe, BM: Bauchmark, Di: Dissepiment, Ep: Epidermis, LMu: Längsmuskulatur, Mes: Mesenchymzellen, Mu: Kiemenmuskulatur, pKEp: prospektive Kiemenepidermis, RMu: Ringmuskulatur.)

schon eine schwache epidermale Zellverlagerung in Richtung Kiemenanlage feststellen (Abb. 8*a*).

Stadium 2

Im weiteren Umkreis des entstehenden Kiemenhöckers verschieben sich die Epidermiszellen nun gegen das Zentrum der Kiemenanlage (Abb. 8*b*), in der vereinzelte Mitosefiguren auftreten. Der epidermale Anteil der Kiemenanlage setzt sich in diesem Stadium jedoch grösstenteils aus zugewanderten Zellen der Segmentepidermis zusammen. Abbildung 13*b* zeigt, dass die Mitoserate während den auf die Amputation folgenden 6 Stunden stark erhöht ist.

In den entstehenden Epidermishöcker werden Ringmuskelfasern des Hautmuskelschlauches mitgezogen, die später zur Kiemenmuskulatur werden. Zu diesem Zeitpunkt wandern Mesenchymzellen aus dem Segment in die Kiemenan-

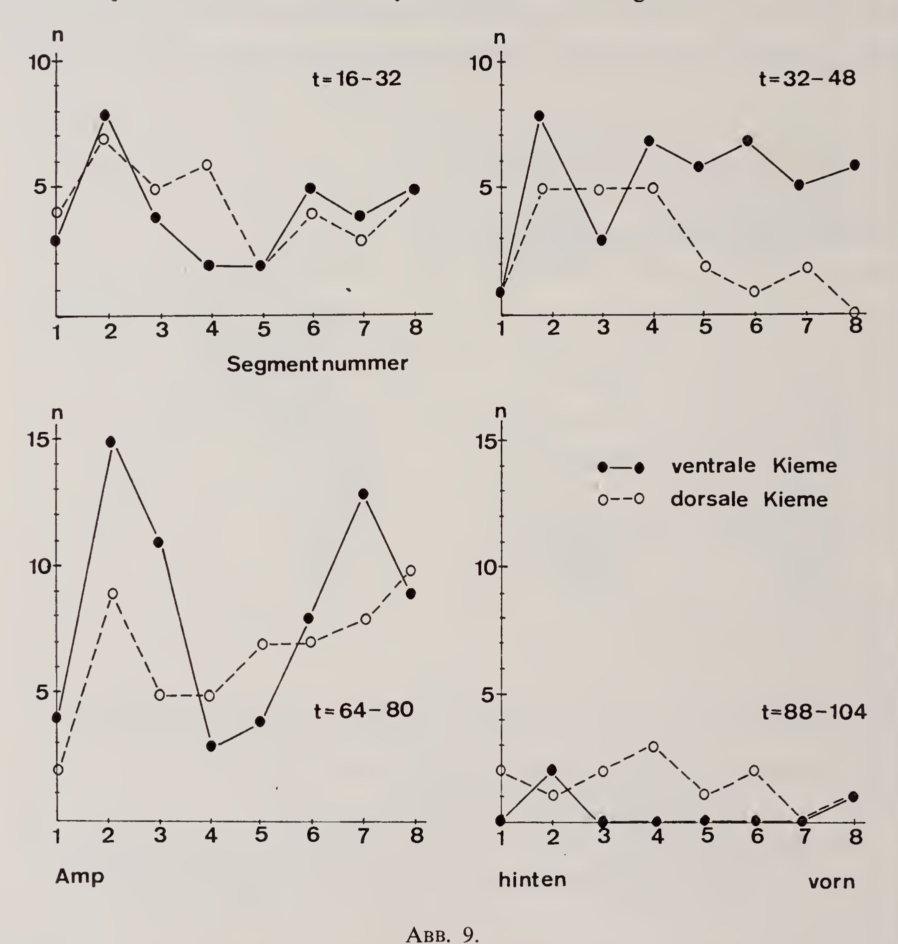


Abb. 9.

Mitoseraten in der Epidermis der hintersten 8 nach Amputation der Primärkiemen (vergl. Abb. 6) entstehenden Sekundärkiemenpaare. Die Tiere wurden während 16 Stunden vor Fixation mit Colcemidlösung (0,001 %) behandelt. (Amp: Amputationsniveau, n: Gesamtzahl der Mitosen pro Kiemenepidermis, ermittelt auf Serienschnitten, t: Zeitpunkt des Einsetzens der Colcemidbehandlung resp. der Fixierung in Stunden.)

lage ein. Die Längsmuskelschicht des Segments beteiligt sich nicht am Aufbau der Kieme. Sie lässt aber an der Kiemenbasis eine Lücke entstehen, durch welche die Mesenchymzellen und die Blutkapillaren in die Kieme eintreten können. Der im Zusammenhang mit der Ontogenese beschriebene Zustand, in dem sich der Kiemenraum mit dichtgedrängten Mesenchymzellen füllt (Tafel I*a*), fällt bei der Sekundärkiemenbildung weg; die Mesenchymzellen sind hier locker verteilt.

Bei Versuchstieren, die von Anbeginn an der Wirkung des Colcemids ausgesetzt waren, verlaufen die bis hier beschriebenen Vorgänge normal, was vermuten lässt, dass sich diese ohne Zellvermehrung abspielen.

Stadium 3

32 bis 96 Stunden nach Amputation treten in den Zellen der Kiemenepidermis in mehreren Schüben vermehrt Mitosefiguren auf (Abb. 9), und nach 96 Stunden beobachtet man auch im Kiemenmesenchym zahlreiche Teilungsbilder. Die Mesenchymzellen weichen in diesem Zeitpunkt auseinander, legen sich an die Kiemenwände an und lassen im Kiemeninneren einen Hohlraum frei. Damit ist der charakteristische Zustand der ausdifferenzierten Kieme erreicht. Diese Verlagerung der Mesenchymzellen beginnt distal (Abb. 8*c*) und hat nach 24 Stunden die Kiemenbasis erreicht. Das epidermale, auf Zellteilung beruhende Wachstum ist nach 120 Stunden (vergl. Abb. 9), das mesenchymale 24 Stunden später abgeschlossen.

Das Längenwachstum der Sekundärkiemen verläuft, beurteilt aufgrund der in der Kiemenepidermis auftretenden Mitosen, nicht kontinuierlich, sondern erfolgt in Schüben (Abb. 9). Obwohl die 4 Kurven von 4 verschiedenen Tieren stammen, zeigen sie doch, dass zu einem gegebenen Zeitpunkt die Mitosetätigkeit in den Kiemen der untersuchten Segmente sehr unterschiedlich sein kann. Ausserdem ergeben sich deutliche Unterschiede beim Vergleich von dorsalen und ventralen Kiemen: Während die Mitoserate nach 32 Stunden dorsal und ventral noch praktisch gleich hoch ist, ist sie nach 48 resp. 80 Stunden ventral höher als dorsal. Das Wachstum der ventralen Kiemen ist deshalb etwas früher abgeschlossen als das der dorsalen Kiemen (Abb. 9).

c. Resorption der Sekundärkiemen

Im Rahmen des normalen Längenwachstums und bei der Regeneration kiementragender Segmente kompensiert die von vorn beginnende Kiemenresorption die teloblastische Entstehung neuer kiementragender Segmente (Abb. 6). Im Falle der Regeneration werden die vordersten Sekundärkiemen schon 1—2 Tage nach ihrer Entstehung wieder resorbiert (Abb. 7, SK). Die Resorption der ventralen Kiemen setzt etwas früher ein als die der dorsalen. Die Resorption durchläuft die für die ontogenetische Entwicklung beschriebenen Stadien in umgekehrter Richtung.

Stadium 1

Zu Beginn der Resorption lösen sich die Mesenchymzellen von der Innenwand des Kiementubulus los und sammeln sich in dessen Zentrum an. Der Prozess beginnt distal und schreitet gegen die Basis der Kieme fort. Die ursprüng-

liche Länge der Kieme wird durch diesen Vorgang noch nicht oder nur unwesentlich verändert (Abb. 10*a*).

Stadium 2

In einer zweiten Phase wird der Kiementubulus durch Zusammenrücken der Epidermiszellen verkürzt. Die Oberflächen der Kiemenepidermis und der benachbarten Segmentepidermis werden — auf Querschnitten oft bis auf die Seiten des Segments — leicht aufgefaltet (Abb. 10*b*).Es konnte nicht festgestellt werden, ob dieser Prozess durch eine Kontraktion der unter der Epidermis liegenden Muskulatur verursacht wird. Die zentrale Aggregation der im Innern des Kiementubulus liegenden Mesenchymzellen macht weitere Fortschritte. Histologisch gleicht jetzt die Kieme einer ontogenetisch entstehenden Kieme im Stadium 2.

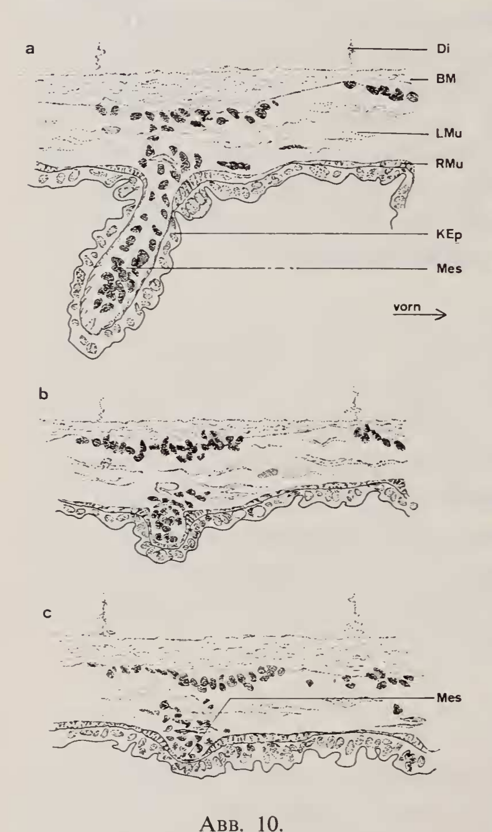


Abb. 10.

Längsschnitt durch 3 aufeinanderfolgende Stadien der Sekundärkiemen-Resorption. Die Stadienreihe stammt vom gleichen Tier; *a* und *b* sind durch 4, *b* und *c* durch 1 Segment getrennt. Vergr.: 380 ×. (BM: Bauchmark, Di: Dissepiment, KEp: Kiemenepidermis, LMu: Längsmuskulatur, Mes: Mesenchymzellen, RMu: Ringmuskulatur.)

Stadium 3

Die nun fast vollständig resorbierte Kieme ist äusserlich nicht mehr sichtbar. Die histologische Untersuchung der Resorptionsstelle zeigt jedoch, dass die Epidermis immer noch aufgeworfen ist und dass ihre Zellen noch dichter stehen als in der normalen Segmentepidermis. Die Mesenchymzellen der Kieme passieren die in der Längsmuskulatur des Hautmuskelschlauches ausgesparte Lücke und wandern ins Segment zurück (Abb. 10*c*). Da auch im mesodermalen Bereich der in Resorption begriffenen Kiemen keine Nekrosen auftreten, ist die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass für eine spätere Sekundärkiemenbildung die ins Segment zurückgewanderten Mesenchymzellen wieder verwendet werden können.

Die Ringmuskelfasern der Kieme werden, soweit histologisch festgestellt werden konnte, im Laufe der Resorption wieder der Segmentmuskulatur ein-

verleibt. Die Ringmuskelschicht des Hautmuskelschlauches ist an der Resorptionsstelle vorübergehend verdickt (Abb. 10*b*, *c*). Die Längsmuskulatur des Segments wird von der Kiemenresorption nicht betroffen. Ihre Fasern schliessen die am Anfang der Kiemenbildung entstandene Lücke wieder. Das Schicksal der Kiemengefässe konnte nicht ermittelt werden. Kleinere und grössere Blutlakunen liegen zwischen den auswandernden Mesenchymzellen, aber Gefässwände und Endothelzellen konnten nicht sichtbar gemacht werden.

F. REGENERATION DER KIEMENSEGMENTE

Die Grundlage für diese Untersuchungen bilden 3 Schnittserien, die schon als Unterlage für die Histologie der Sekundärkiemenbildung gedient haben (S. 624). Da der zeitliche Verlauf des Regenerationsprozesses individuellen Schwankungen unterworfen ist, werden im folgenden nur die beobachteten Minimalzeiten angegeben.

a. Wundverschluss und Organisation des Wundbereiches

Der Wundverschluss spielt sich in den ersten auf die Amputation folgenden 24 Stunden ab und ist durch folgende Vorgänge gekennzeichnet: Die ganze Wundfläche samt dem angeschnittenen Darmrohr wird von der Epidermis zunächst überwachsen. Erst später bricht das Darmrohr wieder durch. Gleichzeitig steigt die Zahl der Neoblasten in den der Wundstelle benachbarten Segmenten auf ein Maximum an (Abb. 13*c*), und die ersten dieser Zellen treten ins Wundsegment über. Diese Prozesse sollen nun im Detail beschrieben werden:

Während den auf die Amputation folgenden *1½ Stunden* zieht sich das Bauchmark von der Schnittstelle ins Innere des Segments zurück. Die Wand des angeschnittenen Darmes biegt sich allseitig trichterförmig nach aussen und nimmt mit der Wundepidermis Kontakt auf. Diese nähert sich ihrerseits dem angeschnittenen Darmepithel, wahrscheinlich aufgrund der Kontraktion der Ringmuskulatur (Abb. 11*a*), die im Wundbereich doppelt so dick ist wie im Hautmuskelschlauch eines normalen Segments. Im Inneren des angeschnittenen Segments häufen sich Bruchstücke von zerfallenen Längsmuskelfasern an (Abb. 11*a*), deren ursprünglich langgezogene Kerne mehr und mehr eine Kugelform annehmen.

Die Epidermis, deren Kerne im Wundbereich dicht gedrängt stehen — Mitosen konnten jedoch noch keine festgestellt werden — und eine längliche Form angenommen haben (Abb. 11*b*), überzieht *2 Stunden* nach Amputation fast die ganze Schnittfläche. Das Darmrohr des Wundsegments ist nicht mehr trichterförmig erweitert, sondern stark kontrahiert, sodass das Darmlumen auf ein

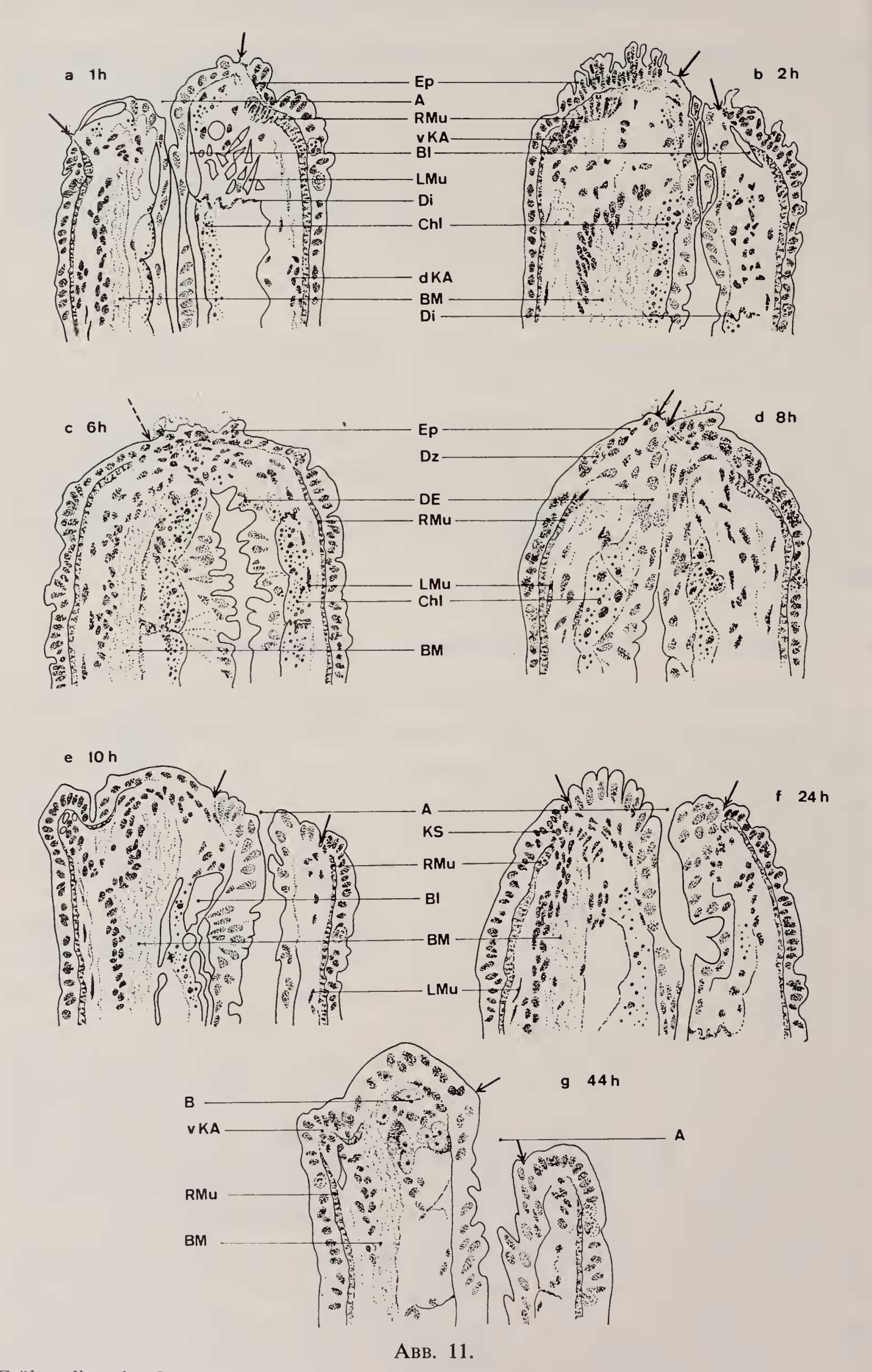


Abb. 11.

Frühstadien der Segmentregeneration 1—44 Stunden nach Amputation der kiementragenden Segmente. a-c und e-g Sagittalschnitte, d Frontalschnitt durch die Amputationszone und die Regeneratsanlage. Die Grenzen zwischen Epidermis und Darmepithel sind mit Pfeilen gekennzeichnet, a, d, f = 300 ×, b = 340 ×, c = 320 ×, e = 360 ×. (A: Anus, B: Blastem, Bl: Blutgefässe, BM: Bauchmark, Chl: Chloragogenzellen, DE: Darmepithel, Di: Dissepiment, dKA: dorsale Kiemenanlage, Dz: Drüsenzellen, Ep: Epidermis, eR: entstehende Ringmuskulatur, KS: Kontaktstelle zwischen Epidermis und Bauchmark, LMu: Längsmuskulatur, Mes: Mesenchym, Nb: Neoblasten, pKS: provisorische Kontaktstelle, RMu: Ringmuskulatur, SK: Sekundärkieme, vKA: ventrale Kiemenanlage.)

Minimum reduziert ist. Die Chloragogenzellen des angeschnittenen Segments zerfallen; ihr Inhalt verteilt sich entlang dem Darm bis in den Bereich der Schnittstelle. Da im unverletzten Segment ihre Zahl um ein vielfaches höher ist als im

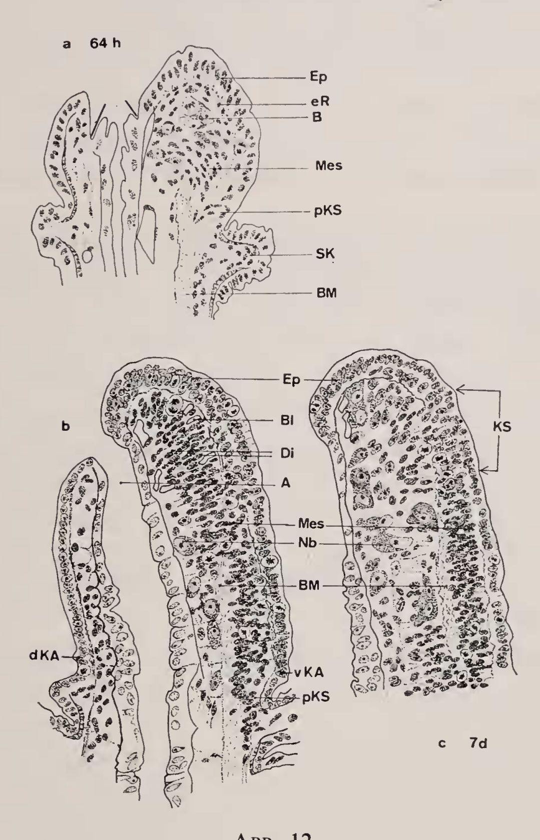


Abb. 12.

Späte Stadien der Segmentregeneration 64—168 Stunden nach Amputation der kiementragenden Segmente. Abbildung 12*c* zeigt nur den ventralen Teil des Regenerats. a = 460 ×, b, c = 270 ×. Für Zeichenerklärung siehe Abbildung 11.

verletzten Segment, ist entweder ein Teil der Einschlüsse bei der Operation verloren gegangen oder aber aufgelöst worden. Ob es sich in diesem Fall um Eleocyten mit trophischer Funktion handelt (Liebmann, 1943) konnte nicht abgeklärt werden.

Die von Stephan-Dubois (1952, 1953, 1954) bei *Tubifex* und *Lumbriculus* eingehend beschriebenen Neoblasten entsprechen in Grösse, Aussehen und Histologie den bei *Branchiura* gefundenen. Diese bis 15 μ grossen Zellen entstehen grösstenteils aus schon vorhandenen Zellen der rückwärtigen Dissepimentbasis. In morphogenetisch inaktiven Segmenten sind 0—3 Neoblasten vorhanden

(Abb. 13*a*). 2 Stunden nach Amputation kann ihre Zahl schon auf 3—5 je Segment ansteigen (Abb. 13*b*).

Zwischen *4—6 Stunden* nach Operation setzt in der Epidermis der hintersten 10 Segmente eine intensive mitotische Zellvermehrung ein. Während im normalen unverletzten Tier 5—15 Mitosen zu zählen sind (Abb. 14*a*), findet man jetzt in den Segmenten 4—7 (von der Schnittstelle nach vorn gerechnet) mit einem Maximum im 6. Segment zT. über 100 in Teilung begriffene Kerne (Abb. 14*b*). Die Mitosen verteilen sich noch mehr oder weniger gleichmässig über die ganze Epidermis. Im Wundsegment selber ist indessen die Zahl der Mitosen noch kaum erhöht.

In der Epidermis des Wundbereiches und im darunter endigenden Darmepithel treten nun vereinzelte Pyknosen auf. In Anbetracht ihrer Lage dürfte es sich dabei um Zellen handeln, die bei der Amputation verletzt worden waren.

6 Stunden nach Amputation ist der Darmausgang von der Epidermis vollständig überzogen. Einzelne Zellen des Darmepithels und der Darmmuskulatur, möglicherweise auch noch Überbleibsel des zerfallenen Chloragogenkomplexes breiten sich fächerförmig zwischen dem nun verschlossenen Ende des Darmrohrs und der Wundepidermis aus (Abb. 11*c*). An einer bestimmten, auf Abbildung 11*c* durch einen Pfeil gekennzeichneten Stelle, ist keine Grenze mehr festzustellen zwischen diesen Derivaten des Darmes und der Epidermis. In diesem Bereich wird im Hinblick auf die Anus-Bildung die Kontinuität der Epidermis und der Darmgewebe erstellt.

Im Wundbereich sind nun die Einschlüsse der Chloragogenzellen fast ganz verschwunden, und die ersten Neoblasten lösen sich von den Dissepimenten der hintersten 10—15 Segmente ab.

Nach *8 Stunden* ist der Darm, dessen Lumen noch immer reduziert ist, erneut und endgültig durchgebrochen (Abb. 11d). Die Zellen des Darmrandes stehen in Kontakt mit der rund um den prospektiven Anus einen Wulst bildenden Epidermis.

Nach *8—10 Stunden* vermehren sich in den hintersten 10 Segmenten mit Ausnahme des angeschnittenen Segments die Neoblasten auf das Maximum von 15—20 je Segment (Abb. 13*c*). Die meisten entstehen direkt aus hypertrophierenden Zellen der Dissepimentbasis, einige sind jedoch Tochterzellen sich teilender Neoblasten.

10 Stunden nach Amputation weichen die Ränder des angeschnittenen Darmrohres wieder auseinander (Abb. 11*e*). Differenzierte Muskelfasern des ursprünglichen Hautmuskelschlauches reichen dorsal und ventral bis zur Wundstelle, während in lateralen Sektoren des Hautmuskelschlauches immer noch Fragmente von angeschnittenen Muskelzellen zu finden sind, die nach weiteren 10 Stunden verschwinden. Nekrotische Bereiche liessen sich im Muskelgewebe nicht mit Sicherheit nachweisen, und Mitosen innerhalb des Verbandes der Muskelfasern treten in Blastemnähe keine auf.

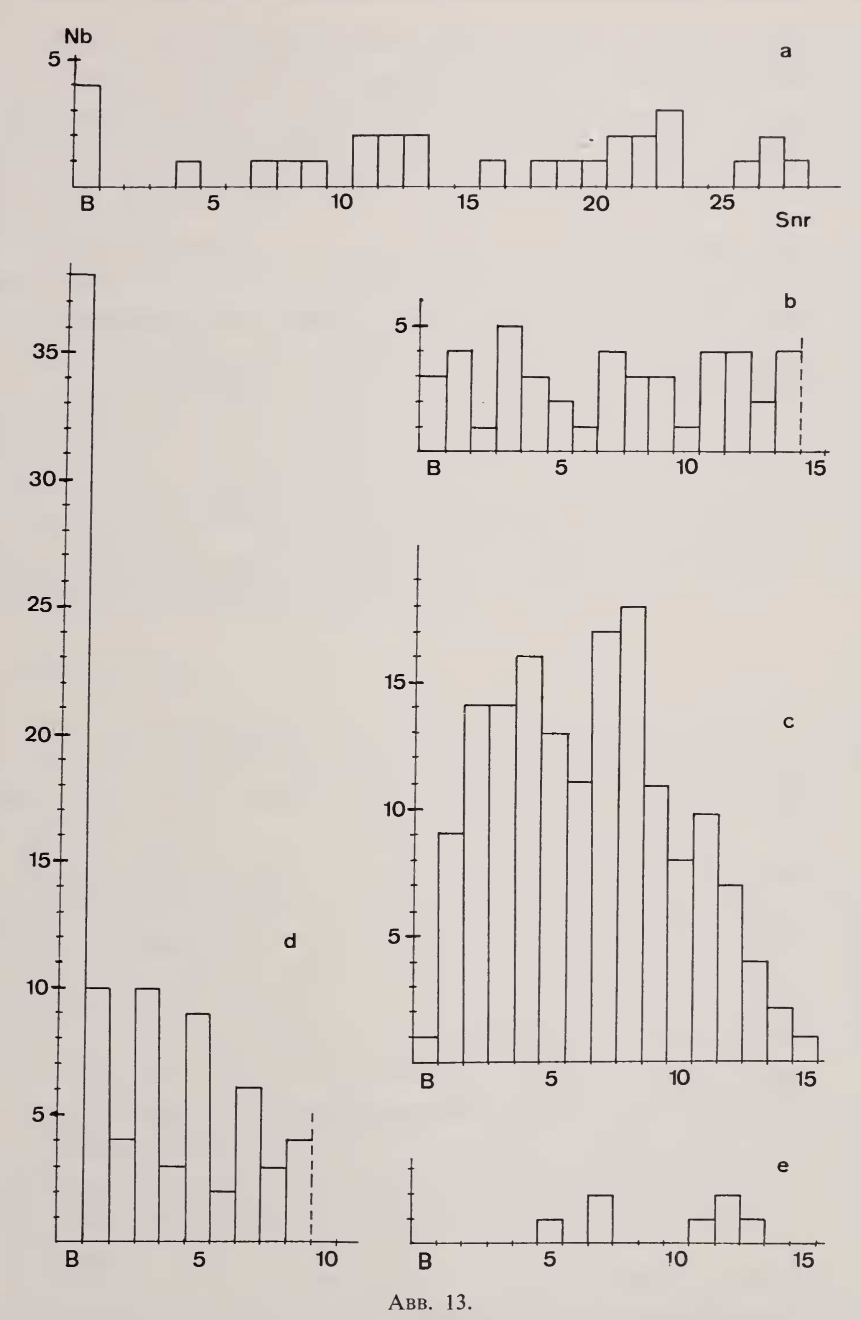


Abb. 13.

Zahl der Neoblasten Nb in den hintersten 9—15 Segmenten im normalen unverletzten Tier (a) und 2 Stunden (b), 10 Stunden (c), 32 Stunden (d) und 104 Stunden (e) nach Amputation der kiementragenden Segmente. Die Tiere der Darstellungen d und e wurden in den letzten 16 Stunden vor Fixation mit Colcemid (0,001 %) behandelt. (B: Blastem, Snr: Segmentnummer. 1 = hinterstes, 15 = vorderstes Segment.)

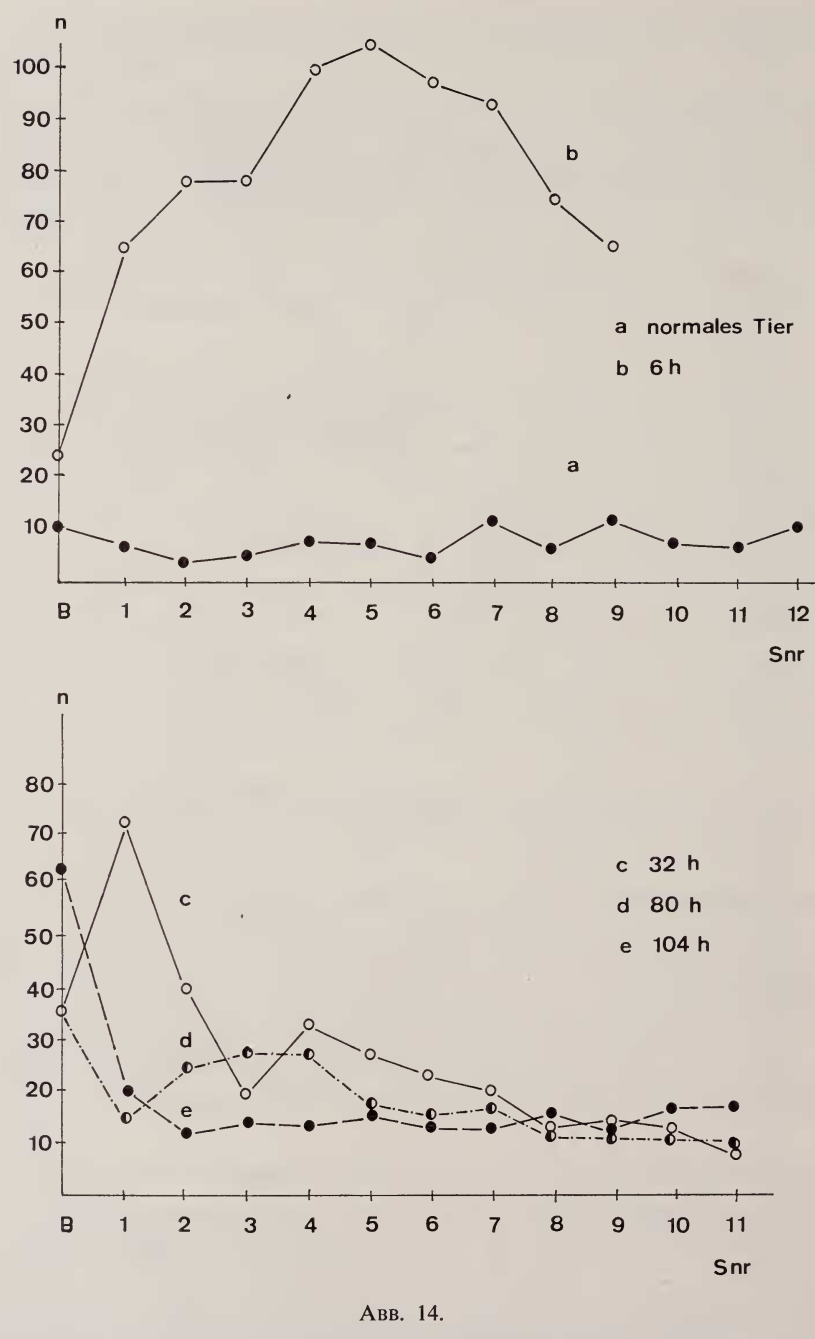


Abb. 14.

Zahl der Mitosen (n) in der Segmentepidermis im normalen unverletzten Tier (a) und 6, 32, 80 resp. 104 Stunden nach Amputation der Kiemensegmente. Die Tiere der Kurven c, d und e wurden in den letzten 16 Stunden vor Fixation mit Colcemid (0,001 %) behandelt. (B: Blastem, Snr: Segmentnummer. 1 = hinterstes, 12 = vorderstes Segment.)

Nach ca. *16 Stunden*, d.h. dann, wenn die ersten Anlagen der Sekundärkiemen sichtbar werden (S. 623) verlagert sich die Mitosetätigkeit innerhalb der Segmentepidermis auf die dorsale und ventrale Seite des Segments in den weiteren Umkreis der entstehenden Sekundärkiemen (S. 625). Jetzt sind auch die ersten Neoblasten, dem Bauchmark folgend, aus benachbarten Segmenten im Wundsegment angelangt.

Nach *24 Stunden* stellt ein aus dem ventralen Bereich des Bauchmarks stammender Zellverband eine lockere Verbindung zwischen der Fasermasse des Bauchmarks und der ventralen Epidermis des Hautmuskelschlauches her (Abb. 11*f*). Die Kerne dieser Zellen sind auffallend langgestreckt. Die Ringmuskulatur reicht in normaler Stärke ventral bis zu dieser Kontaktstelle zwischen Epidermis und Bauchmark, dorsal so weit wie die Epidermis selbst (Abb. 11*f*). Im Bereich der Längsmuskulatur treten in Segmenten vor der Amputationszone vereinzelte Mitosen auf. Die betreffenden Kerne sind länglich und laufen in zwei Spitzen aus. Ob es sich dabei um Fibroblasten, um Myoblasten oder um Produkte von Entdifferenzierungsprozessen handelt, liess sich mit den angewandten konventionellen histologischen Methoden nicht entscheiden.

b. Blastembildung

Diese zweite Phase, die sich von der 24. bis zur 32. postoperativen Stunde erstreckt, ist durch die Bildung und das Wachstum des Regenerationsblastems gekennzeichnet, sowie durch die engere Kontaktnahme zwischen Epidermis und Bauchmark.

Die Epidermis normaler Segmente ist von zahlreichen Drüsenzellen durchsetzt, die in der Wundepidermis nun verschwinden. In der Epidermis wundnaher Segmente verlagert sich nach *32 Stunden* der Bereich mit der höchsten mitotischen Aktivität vom 6. Segment (Abb. 14*b*) in das letzte intakte, an die Wundstelle angrenzende Segment (Abb. 14*c*). Die Gesamtzahl an Epidermismitosen nimmt rasch ab, und mit Ausnahme des Wundsegments steigt sie nie mehr über 40, vom 6. Segment an kopfwärts nie mehr über 20 je Segment (Abb. 14*d*, *e*).

In dieser Phase ist auch im Bereich des Darmrohres eine erhöhte Mitosetätigkeit zu beobachten. Diese beschränkt sich aber auf die hintersten vor dem Wundsegment liegenden 2 Segmente. In den übrigen weiter vorn liegenden Segmenten bleibt die Mitosezahl im Bereich des Darmes auf dem Normalwert von 0—10 Mitosen je Segment (Abb. 15).

Der Grossteil der in den Segmenten entstandenen Neoblasten wandert nun ins Wundsegment, und 32 Stunden nach Amputation konnten im jungen Blastem auf der Ventralseite des Segments an die 40 Neoblasten gezählt werden (Abb. 13*d*), davon die Hälfte in Mitose.

Das Bauchmark biegt unmittelbar vor dem Blastembereich unter einem

Winkel von 30° nach ventral ab und nimmt mit der ventralen Epidermis engen Kontakt auf (Abb. 11*g*).

Das Auftreten von Blutlakunen innerhalb des Blastems deutet darauf hin, dass dessen Blutversorgung von diesem Zeitpunkt an gewährleistet ist. Gefässwandungen konnten aber keine nachgewiesen werden.

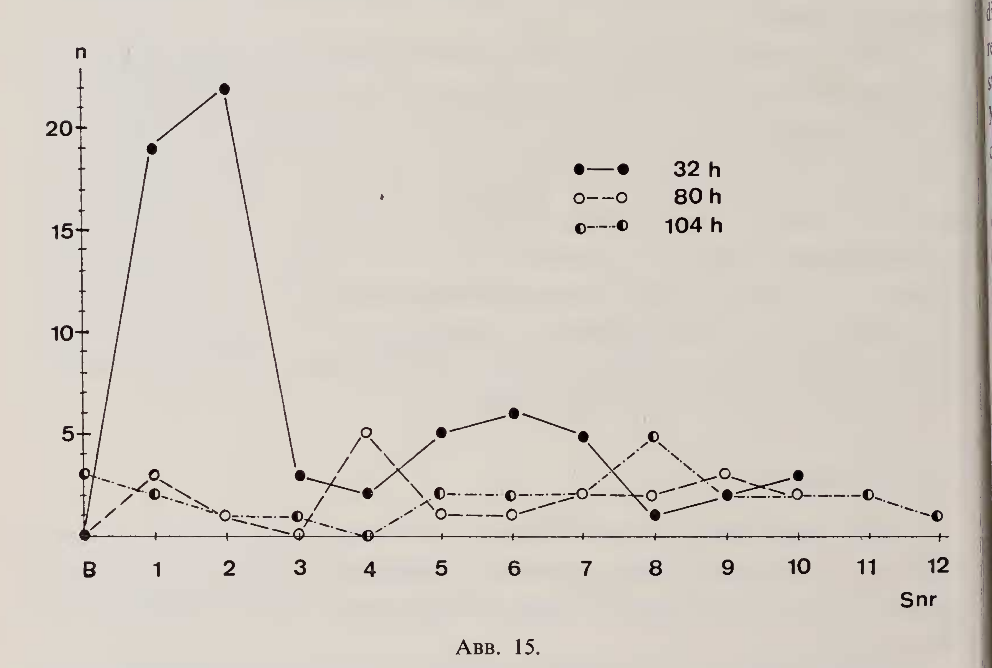


Abb. 15.

Zahl der Mitosen in den hintersten 12 Segmenten des Darmrohres 32, 80 und 104 Stunden nach Amputation. Die Tiere wurden in den letzten 16 Stunden vor Fixation mit Colcemid (0,001 %) behandelt. (B: Blastem, n: Zahl der Mitosen pro Segment, Snr: Segmentnummer. 1 = hinterstes, 12 = vorderstes Segment.)

c. Blastemwachstum und Differenzierung der Segmente

Aufgrund der folgenden Anhaltspunkte kann der Beginn der Segmentdifferenzierung im Regenerat und damit die Bildung des neuen Körperteiles ermittelt werden: Vom Bauchmark aus wachsen nach ca. 40 Stunden Nervenfasern ins Blastem ein, während seine Hauptmasse immer noch dicht unter der Epidermis an der schon mehrfach erwähnten Kontaktstelle endet (Abb. 12*a*). Dadurch dass die Wundepidermis stärker wächst als das Darmepithel, wird dieses von der 32. Stunde an immer mehr ins Innere des Wundsegments verlagert. Aus diesem Grund ist der Endabschnitt des Darmes von Epidermis ausgekleidet. Ausserdem wächst zunächst vor allem der ventral des Darmes liegende Bereich mit dem Blastem stark aus, sodass die Darmöffnung 45, spätestens 60 Stunden nach Amputation dorsalwärts verschoben wird (Abb. 11*g*).

Das Blastemwachstum beruht auf einer intensiven Mitosetätigkeit innerhalb der das Blastem umhüllenden Epidermis (Abb. 14*d*, *e*) und der das Blastem bildenden Neoblasten und ihrer Tochterzellen (Abb. 13*d*). Während der ersten 7—10 Tage nach Amputation erstreckt sich diese Mitosetätigkeit auch auf das Mesenchym der 20—25 in dieser Zeit entstandenen Segmente. Zusammen erreichen diese eine Längsausdehnung von 2—3 normalen Segmenten. Das vorderste der regenerierten Segmente, d.h. dasjenige, das an die Amputationsstelle anschliesst, steht umittelbar vor der Differenzierung seiner Kiemen (Abb. 12*b*, dKA, vKA). Mit fortschreitender Differenzierung der Segmente bleiben die Mitosen im Mesenchym auf die Zellen des Blastems beschränkt.

Während des ganzen Regenerationsprozesses ist das Blastem, das sich aus den Neoblasten und aus ihnen entstandenen Mesenchymzellen zusammensetzt, im ventralen Teil des Regenerats lokalisiert (Abb. 12*b*, *c*). Im dorsalen Teil treten keine Neoblasten auf, und die Epidermis bleibt dort durchwegs einschichtig. Die im Dorsalbereich benötigten Regenerationszellen werden offenbar aus dem ventral liegenden Blastem bezogen. Dies mag mit ein Grund dafür sein, dass der dorsale, über dem Darm liegende Körperteil mit den dorsalen Kiemen langsamer regeneriert als der ventrale Körperteil (Tafel I*b*).

In den mesodermalen Geweben der an die Schnittstelle grenzenden alten Körpersegmente bleibt die Mitoserate während der ganzen Regenerationsdauer auf gleichem Niveau. Eine Ausnahme bilden nur die Mesenchymzellen im Innern der entstehenden Sekundärkiemen (vergl. S 627).

Das *64 Stunden* alte Blastem setzt sich aus kleinen Neoblasten und zahlreichen aus diesen hervorgegangenen Mesenchymzellen zusammen (Abb. 12*a*). Letztere besitzen wenig Plasma und liegen dicht nebeneinander. Obwohl die Dissepimente noch nicht differenziert sind, ist deren Lage aufgrund der Anordnung und Orientierung der Blastemzellen — auf einem Sagittalschnitt in dorsoventraler Richtung (Abb. 12*a*) — vorgezeichnet.

Die Längsmuskulatur scheint sich aus eigenen Elementen zu regenerieren. Dafür sprechen die schon erwähnten Mitosen der Fibroblasten, Myoblasten oder entdifferenzierten Zellen im Bereich des Muskelgewebes. Anhaltspunkte für eine Einwanderung von Blastemzellen konnten nicht gefunden werden. Die Ringmuskulatur war bis zu diesem Stadium noch nicht differenziert. Erste Anzeichen erscheinen 64 Stunden nach Amputation am Aussenrand des Blastems und unter der Epidermis: Ventral und distal findet sich eine Kette von Zellen mit kleinen Kernen, bei denen es sich vermutlich um Myoblasten handelt (Abb. 12*a*, eR).

Nach *120 Stunden* hat das Regenerat nach intensiver Vermehrung der Mesenchymzellen weiter an Länge zugenommen, ohne dass äusserlich eine metamere Gliederung feststellbar wäre. Erst nach *7 Tagen* treten auf histologischen Bildern die ersten Dissepimente auf. Möglicherweise wurden diese schon vorher differenziert, können aber erst dann festgestellt werden, wenn der zunächst dicht stehende

Verband von Mesenchymzellen sich etwas lockert (Abb. 12*b*). Die ersten Dissepimente erscheinen im vordersten Teil des Regenerats, während sich ihre Lage in der Regeneratsspitze aufgrund der schon differenzierten segmentalen Ringgefässe erahnen lässt (Abb. 12*b*).

Die Nervenfasern, die 40 Stunden nach Regenerationsbeginn ins Blastem einwachsen (Abb. 12*a*), verdichten sich zum definitiven Bauchmark des Regenerats, indem knapp vor den auswachsenden Axonen beidseits des Bauchmarks auf einer Länge von 10—15 Zellbreiten (Abb. 12*c*, KS) Epidermiszellen ins Innere einwandern und in Nervenzellen umgewandelt werden (vergl. auch HAASE, 1898; KORSCHELT, 1927). In einem 18-tägigen Regenerat reduziert sich diese Einwanderungszone, im Zuge der Verlangsamung der Regenerationsgeschwindigkeit, auf 2—3 Zellbreiten (Tafel I*b*). Die 32 Stunden nach Amputation entstandene Kontaktstelle zwischen Epidermis und Bauchmark verschwindet (Abb. 12*b*, pKS). Es scheint, dass sie nur solange nötig war, bis die auswachsenden Nervenfasern in der Regenerationsspitze den Kontakt mit der regenerierten Epidermis aufgenommen hatten.

Im Hautmuskelschlauch des 7-tägigen Regenerats ist die schwache Muskelschicht schon deutlich in Längs- und Ringmuskulatur geschieden. Erstere zieht sich dorsal und ventral bis in die hinterste Regeneratsspitze, während die Ringmuskulatur nur bis auf die Höhe der neuen ventralen Kontaktstelle (Abb. 12*c*, KS) zwischen Epidermis und Bauchmark reicht. Im Verlauf der weiteren Segmentdifferenzierung wird die Ringmuskulatur nur unbedeutend dicker, während sich die Längsmuskulatur um das 4—5 fache verdickt.

In diesem Zeitpunkt wandern immer noch Neoblasten aus den ans Regenerat angrenzenden Segmenten in dieses ein (Abb. 12*b*, *c*). Offenbar wird noch längere Zeit ein reduzierter Zustrom von Neoblasten aus Segmenten vor dem Amputationsbereich in Richtung Blastem aufrecht erhalten.

Im weiteren Verlauf der Regeneration, die nach und nach in ein normales Längenwachstum übergeht, verringert sich die Geschwindigkeit der teloblastischen Segmentbildung: In den auf die Amputation folgenden 7—10 Tagen werden 20—25 Segmente regenerativ gebildet; in weiteren 10 Tagen reduziert sich der Zuwachs auf 10—15 Segmente.

Im übrigen bietet auch ein 30-tägiges Regenerat nur graduelle Unterschiede zum eingehend beschriebenen 7-tägigen Regenerat: Die ältesten der regenerierten Segmente weiten sich aus (die normale Länge wird jedoch erst nach 2—3 Monaten erreicht), sodass das Coelom sichtbar wird. Ausserdem holt die Dorsalseite ihren Rückstand auf, den sie bezüglich der Differenzierungsgeschwindigkeit gegenüber dem ventralen Bereich hatte. Dies äussert sich auch darin, dass sich die Zahl der dorsal regenerierten Kiemen an diejenige der ventralen angleicht. Das rasche regenerative Wachstum geht im Verlauf der folgenden 2 Monate wieder in das langsame ontogenetische über (vergl. Tafel I*a* und *b*).

G. REGENERATION DER PRIMÄRKIEMEN

Die ersten Anzeichen einer beginnenden Primärkiemenregeneration treten an den vordersten Segmenten des Regenerats 7—10 Tage nach Amputation auf (Abb. 12*b*, dKA, vKA). 2—3 Wochen nach Amputation kann das Regenerat bereits 30 Segmente mit je einem regenerierten Kiemenpaar aufweisen. Tafel I*b* zeigt einen Sagittalschnitt durch ein 18 Tage altes Regenerat.

Die drei anlässlich des ontogenetischen Wachstums definierten Entwicklungsstadien werden auch hier als Richtlinien für den Entwicklungszustand der Kiemen herangezogen. Sie lassen sich hier aber nicht deutlich voneinander abgrenzen.

Stadium 1

Der Beginn der Primärkiemenregeneration manifestiert sich in der Epidermis des regenerierten Segments. Vor der ventralen Kontaktstelle zwischen Epidermis und Bauchmark, deren Zellen rundliche Kerne haben, bildet sich eine Zone mit langgezogenen Epidermiszellen und -kernen. Dies ist die Region, in deren Zentrum die neue Kieme entstehen wird: Im Längsschnitt gesehen rücken einige Epidermiszellen nahe zusammen und bilden zunächst einen kleinen Höcker mit konzentrisch angeordneten länglichen Kernen (Abb. 12*b*, KA). Als Folge dieses Evaginationsvorganges flachen sich die Epidermiszellen zwischen zwei benachbarten Kiemenanlagen ab. Da wohl in der Segmentepidermis Mitosen auftreten, jedoch praktisch keine in der zukünftigen Kiemenepidermis, darf angenommen werden, dass ein erster Kiemenhöcker aufgrund von Zellverschiebungen und Zellstreckung entsteht.

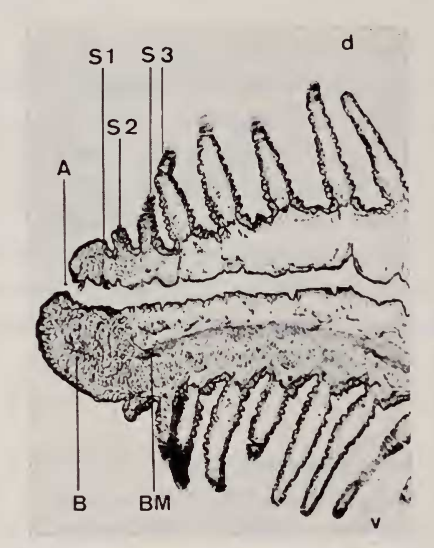
Unter der schwachen Epidermiserhebung erscheinen nun einzelne Fasern der Segment-Ringmuskulatur, während die Längsmuskulatur an der Basis der entstehenden Kieme auseinanderweicht (vergl. auch S. 626). Die so entstandene Lücke im Hautmuskelschlauch wird von den Mesenchymzellen, die zunächst einzeln in die Kiemenanlage einwandern, als Durchlassöffnung benützt.

Stadium 2

Das im Zusammenhang mit dem ontogenetischen Wachstum beschriebene Stadium 2, gekennzeichnet durch den mit Mesenchymzellen dicht gefüllten Kiementubulus, fällt hier weg, da das Einwandern der Mesenchymzellen und die Längsstreckung der Kiemen annähernd synchron und langsam verlaufen. Auf Stadium 1 folgt deshalb direkt das Stadium 3.

Stadium 3

Mit dem Längenwachstum der Kiemen werden die Kerne der Epidermiszellen rundlich. Mitosen in der Kiemenepidermis werden häufig, beschränken sich aber





TAFEL I*a*.

Sagittalschnitt durch das Hinterende eines frisch geschlüpften *Branchiura*. Vergr.: 245 ×. (A: Anus, B: Blastem, BM: Bauchmark, S1, S2, S3: Stadien 1—3 der ontogenetischen Kiemenentwicklung, d: dorsal, v: ventral.)

TAFEL I*b*.

Sagittalschnitt durch ein 18-tägiges Regenerat von *Branchiura*. Vergr.: 150 ×. (A: Anus, B: Blastem, BM: Bauchmark, KS: Kontaktstelle, Mes: Mesenchym, d: dorsal, v: ventral.)

auf den Basalteil der Kieme. In den oberen 3/4 der Kieme konnten keine Teilungsfiguren beobachtet werden. Von der Bildungszone an der Basis der Kieme werden die Epidermiszellen distalwärts verschoben. Im Segmentmesenchym treten vereinzelt noch Mitosen auf, nie aber unter den Mesenchymzellen der Kiemen. Wir

schliessen daraus, dass bei der Regeneration alle Mesenchymzellen der entstehenden Kieme aus dem Körpermesenchym stammen.

Das Blastem ist während der ganzen Regenerationsdauer gut durchblutet. Segmentale Ringgefässe sind schon in einem 7-tägigen Regenerat festzustellen (vergl. S. 638). Das Einwachsen der Kiemengefässe als Abkömmlinge dieser Ringgefässe fällt zeitlich mit dem Wachstum der Kiemen zusammen.

Voll ausdifferenzierte Primärkiemen findet man erst 20 und mehr Segmente von der Regeneratsspitze entfernt. Diese Tatsache steht im Gegensatz zu den Befunden über die ontogenetische Kiemenentstehung, wo schon das dritthinterste Segment praktisch ausgewachsene Kiemen trägt (vergl. Tafel I*a* und *b*). Ausserdem zählt man am 18-tägigen regenerierten Hinterteil auf der Ventralseite 6—7 Kiemen mehr, bevor die erste dorsale Anlage erscheint, und die jüngste ventrale Kieme liegt auf der Höhe des Anus (Tafel I*b*). Sie entsteht gleichzeitig oder sogar kurz vor der über dem Darm liegenden dorsalen Segmenthälfte. Später verlangsamt sich die regenerative Neubildung von Kiemen in gleichem Mass wie die Regeneration neuer Segmente sich allmählich verzögert.

H. DISKUSSION

a. Segmentregeneration

Die regenerative Neubildung von Segmenten, wie sie in dieser Arbeit für *Branchiura sowerbyi* Beddard beschrieben wurde, stimmt, was die histodynamischen Aspekte anbelangt, weitgehend mit derjenigen anderer Oligochäten überein (Herlant-Meewis, 1964; Abeloos, 1965; Boilly, 1967, 1968).

Wie beim nah verwandten *Tubifex* (Haase, 1898; Stephan-Dubois, 1952) wird das angeschnittene Darmrohr von der Epidermis vorübergehend verschlossen. Der Durchbruch erfolgt bei *Branchiura* schon 10 Stunden, bei *Tubifex* erst 24—48 Stunden nach Amputation. Bei anderen Würmern wird der Anus auch in den ersten Stunden nach Amputation nicht verschlossen. Nach Abeloos (1965) kommen bei den Anneliden je nach Species und Amputationsniveau beide Arten des Wundverschlusses vor.

Die Amputationswunde wird von der Epidermis des Wundsegments überwuchert. Dieser Vorgang ist zunächst das Resultat von Zellstreckungen; die mitotische Vermehrung der Epidermiszellen setzt erst 4—6 Stunden nach Amputation ein und dies vor allem in den nicht unmittelbar an die Wunde grenzenden Segmenten. Im Laufe des späteren Längenwachstum des Regenerats greift die Mitosetätigkeit auch auf die Regenerationsepidermis über. Nach unseren Beobachtungen gehen die Neuroblasten, aus denen das regenerierende Bauchmark

aufgebaut wird, aus Derivaten der Epidermis hervor (vergl. auch HAASE, 1898; KORSCHELT, 1927). Das angeschnittene Bauchmark nimmt sofort Kontakt auf mit der Wundepidermis. Wo dieser Kontakt nicht zustande kommt, verläuft nach unseren Beobachtungen die Regeneration nicht normal, d.h. es wird kein mesodermales Blastem gebildet. Es wäre in diesem Zusammenhang zu untersuchen, ob neurosekretorische Vorgänge für den weiteren Verlauf des Regenerationsprozesses verantwortlich sind. Dieser neuro-epidermale Kontakt bleibt so lange erhalten, bis die vom Bauchmark auswachsenden Nervenfasern eine neue Kontaktstelle in der Spitze des sich entwickelnden Regenerats erstellt haben.

Die Histogenese der mesodermalen Komponenten des Regenerats, vor allem der Muskulatur, konnte nicht ganz abgeklärt werden: Das entstehende, auf der Ventralseite des Regenerats konzentrierte Blastem setzt sich aus Zellen zusammen, die grösstenteils Abkömmlinge von Neoblasten sind. In adulten, morphogenetisch inaktiven Exemplaren von *Branchiura* liegen in jedem Segment 0—3 grosse Neoblasten (in den vordersten 12—14 Segmenten konnten keine nachgewiesen werden), die sehr ähnlich denjenigen von *Tubifex* und *Lumbriculus* sind (STEPHAN-DUBOIS, 1952, 1953, 1954). Nach einer Amputation nimmt die Zahl der an der Basis der Dissepimente liegenden Neoblasten in den der Wundstelle vorgelagerten Segmenten sprunghaft zu. Diese Zunahme beruht darauf, dass sich mesodermale Zellen der Dissepimentbasis durch Hypertrophierung in Neoblasten umwandeln. Es wurden aber auch Teilungen festgestellt, sowohl unter den Neoblasten *in situ* als auch unter denjenigen, die sich von den Dissepimenten gelöst hatten und bereits auf der Wanderung in Richtung Blastem waren. Diese Beobachtung bei *Branchiura* steht im Gegensatz zu Befunden von STEPHAN-DUBOIS (1954) an *Lumbriculus*, nach denen die mitotische Vermehrung der Neoblasten erst dann einsetzt, wenn sie die Amputationsstelle erreicht haben.

Der Zustrom von Neoblasten aus den der Schnittstelle benachbarten Segmenten dauert bei *Branchiura* bis zum 7. postoperativen Tag an. Aber auch ältere Regenerate und Tiere in der Ontogenese (vergl. Abb. 5*b*) zeigen im Blastem, resp. in der teloblastischen Wachstumszone noch eine beschränkte Anzahl von Neoblasten. Eine Übereinstimmung ergibt sich diesbezüglich mit der von BOILLY (1967) an *Syllis* gemachten Feststellung, wo sich nach einer Amputation eine ventrale Masse von Mesenchymzellen von der Parietopleura löst, an die Wundstelle wandert, das Blastem bildet und in reduzierter Zahl (ca. 30 Zellen) im Verlauf des weiteren Wachstums als mesodermale Reserve in der hintersten Körperspitze liegen bleibt. Da bei *Branchiura* auch im ontogenetischen Wachstum und in Segmenten, die weit vom Körperende entfernt liegen, losgelöste und in Teilung begriffene Neoblasten zu finden sind, ist die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass auch ohne Trauma eine begrenzte Verschiebung von Neoblasten stattfindet. Eine Amputation würde lediglich den Zustrom aus den nächstliegenden 15—20 Segmenten intensivieren.

Sind die mesodermalen Elemente im Regenerat einmal segmental abgegliedert, so wird die Mitosetätigkeit praktisch eingestellt. Das bedeutet, dass die Zahl der in diesen Mesodermpaketen enthaltenen Zellen für die Differenzierung des Segmentes ausreicht.

b. Kiemenmorphogenese

Die ontogenetische und regenerative Bildung der Kiemen (Primärkiemen) einerseits und die Entstehung der Sekundärkiemen gehen von verschiedenen Ausgangsbedingungen aus. Im Falle der regenerativen Kiemenbildung (Regeneration der Primärkiemen) hat das Segment noch blastematischen Charakter (Tafel I*b*): Die Segmentgrenzen sind noch nicht festgelegt, und im Bereich des Hautmuskelschlauches setzt die Differenzierung der Muskulatur erst ein. Die Epidermis ihrerseits unterscheidet sich nicht von der normalen Segmentepidermis.

Bei der ontogenetischen Entwicklung der Kiemen ist das kiemenbildende Segment noch kleiner als normal, seine Strukturen (Hautmuskelschlauch, Darmkanal etc.) sind jedoch schon weitgehend differenziert (Tafel I*a*).

In diesen beiden Fällen entstehen die epidermalen Kiemenanlagen in gleicher Weise, d.h. zunächst durch Zusammenrücken der Segmentepidermis, später durch mitotische Vermehrung der Epidermiszellen vor allem an der Basis der Kieme. Bezüglich der Einwanderung von Mesodermzellen in die Kiemenanlage unterscheiden sich die beiden Vorgänge dadurch, dass in der Ontogenese sofort zahlreiche Mesenchymzellen in die Anlage eindringen und sich im Laufe des Kiemenwachstums im Innern der Kieme verteilen, während bei der regenerierenden Primärkieme über längere Zeit immer wieder vereinzelte Mesenchymzellen einwandern. In beiden Fällen konnte nicht festgestellt werden, ob der Anstoss zur Bildung der Kiemenanlage von der ektodermalen oder mesodermalen Komponente ausgeht.

Bei der Regeneration des amputierten Hinterteils werden sofort zahlreiche schmale Segmente angelegt, die sich relativ langsam (innerhalb von 2—3 Monaten) weiterdifferenzieren (Tafel I*b*). Dies gilt auch für die regenerierenden Primärkiemen, die zahlreich in Form von Anlagen vorliegen. In der Ontogenese dagegen sind stets nur 2—3 teloblastisch entstehende Segmentanlagen gleichzeitig vorhanden (Tafel I*a*). Dorsale und ventrale Kiemen entstehen hier gleichzeitig, während im Regenerat zunächst die ventralen und erst später die dorsalen Kiemen angelegt werden. In dieser Hinsicht herrscht zwischen dem Regenerat und der teloblastischen Wachstumszone ein grundlegender Unterschied.

Sekundärkiemen, die nach Amputation der kiementragenden Segmente aus voll ausdifferenzierten Segmenten des Wurmes entstehen, zeigen im Vergleich mit der Ontogenese und der Regeneration von Primärkiemen einen ähnlichen Entwicklungsverlauf. Hier jedoch treten die ersten Anzeichen der beginnenden

Kiemenbildung im Mesenchym auf, das in der hinteren Segmenthälfte wo die Kieme entstehen wird, die Epidermis dicht unterlagert. Diese Mesenchymzellen stammen aus dem Coelom und müssen, um in die Kieme zu gelangen, den Hautmuskelschlauch durchqueren. Die histologischen Bilder zeigen, dass an der Durchtrittstelle die Längsmuskulatur auseinanderweicht und eine Lücke bildet, die auch von den Blutgefässen der Kieme benützt wird. Die Fasern der Ringmuskulatur, die den Epidermishöcker unterlagern, werden in die sich verlängernde Kiemenanlage miteinbezogen und bilden die Kiemenmuskulatur.

Nach unseren Beobachtungen spielen sich die gleichen Vorgänge auch in der Ontogenese und während der Regeneration der Primärkiemen ab, mit dem Unterschied, dass die Segmente dort noch nicht denselben Differenzierungsgrad erreicht haben.

Leider war es nicht möglich, die Entstehung der Blutgefässe in der Kiemenanlage zu verfolgen; ihre Epithelien sind ausserordentlich dünn und treten histologisch kaum in Erscheinung. Es wäre von Interesse zu wissen, ob sie durch einen Sprossungsprozess aus den Ringgefässen des Segments hervorgehen oder ob sie *in situ* durch entsprechende Differenzierung der Mesenchymzellen entstehen.

Das Verschwinden der Kiemen ist ein Resorptionsvorgang, wobei, ohne dass Pyknosen in Erscheinung treten, die Zellen wieder dem Segment einverleibt werden. Die ins Segment zurückwandernden Mesenchymzellen werden, wie vermutet, als Reservezellen im Segment eingelagert.

Es ist späteren Untersuchungen vorbehalten, die Faktoren zu identifizieren, welche diese morphogenetischen Prozesse steuern.

Zusammenfassung

1. Die Histogenese der Primär- und Sekundärkiemen, ihre Resorption und die Segmentregeneration von *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae) wurden mit Hilfe histologischer Methoden untersucht.

2. Die Histogenese der regenerierenden Segmente stimmt weitgehend mit der anderer Oligochäten überein. Nach Amputation wird die ganze Wundfläche von der Epidermis überwuchert. Der Kontaktstelle zwischen Bauchmark und Wundepidermis scheint eine besondere morphogenetische Bedeutung zuzukommen. Das mesodermale Zellmaterial der regenerierenden Segmente stammt von den Neoblasten der 15—20 hintersten Segmente, die zur Wundstelle wandern und deren Tochterzellen das Blastem bilden.

3. Primär- und Sekundärkiemen entstehen als kleine Höcker der Segmentepidermis, in die Mesenchymzellen einwandern. Die Muskulatur der Kiemenfilamente leitet sich von der Ringmuskulatur des sich differenzierenden

resp. bereits differenzierten Hautmuskelschlauches ab, in dem eine Lücke entsteht, durch welche Mesenchymzellen und Kapillargefässe in die Kieme eindringen. Die Entwicklungsgeschichte dieser Gefässe konnte nicht ermittelt werden.

4. Obschon Ontogenese und Regeneration der Primärkiemen und die Entwicklung von Sekundärkiemen von verschiedenen Voraussetzungen ausgehen, konnten, was die Histogenese der Kiemenbildung angeht, keine grundlegenden Unterschiede festgestellt werden.

5. Bei der Resorption der Kiemen werden die verschiedenen Entwicklungsstadien in umgekehrter Reihenfolge durchlaufen, wobei die mesodermalen Zellen der Kieme ins Segment zurückwandern und die Kiemenepidermis wieder in die Segmentepidermis eingefügt wird.

Summary

1. Histological methods have been used to study the histogenesis of primary and secondary gills, their absorption and the regeneration of segments in *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae).

2. It has been confirmed that the histogenesis of regeneration of segments is similar to that of other Oligochaeta. After amputation the epidermis grows over the whole area of the wound. The contact point between ventral nerve cord and wound epidermis seems to be of particular morphogenetic importance. The mesodermal cell material of the regenerating segments develops from the neoblasts of the 15 to 20 most posterior segments, which migrate to the wound and whose daughter cells form the blastema.

3. Primary and secondary gills originate as small protuberances in the epidermis of the segments into which the mesenchymal cells enter. The muscular system of the gill filaments leads from the circular muscle layer of the differentiating or already differentiated muscles of the body wall. The mesenchymal cells and capillaries are penetrating the gills through a gap appearing in those muscle layers. The full genesis of these vessels could not be determined.

4. Although ontogenesis and regeneration of primary gills and development of secondary gills are starting from different conditions, no fundamental differences concerning the histogenesis of gill development have been found.

5. During reabsorption of gills the different stages take place in reverse sequence, i.e. the mesodermal cells of the gill migrate back into the segment, and then the gill's epidermis is integrated into the epidermis of the segment.

Résumé

1. L'histogenèse des branchies primaires et secondaires, leur résorption ainsi que la régénération des segments de *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochètes, Tubificidae) ont été étudiées au moyen de méthodes histologiques.

2. L'histogenèse de la régénération des segments correspond exactement à ce que l'on observe chez les autres oligochètes. Après amputation, toute la surface lésée est envahie par l'épiderme. La zone de contact entre la chaîne nerveuse ventrale et l'épiderme endommagé semble avoir une signification morphologique particulière. Le matériel cellulaire mesodermique des segments en régénération provient des neoblastes des 15 à 20 segments terminaux qui émigrent jusqu'à l'endroit blessé et dont les cellules-filles forment le blastème.

3. Les bourgeons des branchies primaires et secondaires ressemblent à de petites bosses de l'épiderme du segment dans lequel émigrent les cellules du mésenchyme. La musculature des filaments branchiaux provient de la musculature annulaire de l'enveloppe musculaire sous-cutanée en voie de différenciation ou déjà différenciée, dans laquelle apparaît une lacune où les cellules du mésenchyme et les vaisseaux capillaires pénètrent dans la branchie. L'histoire du développement de ces vaisseaux n'a pas pu être éclaircie.

4. Bien que l'ontogenèse et la régénération des branchies primaires d'une part et le développement des branchies secondaires d'autre part procèdent de phénomènes différents, aucune divergence fondamentale n'a pu être prouvée par l'étude de l'histogenèse de leur développement.

5. Au moment de la résorption des branchies, les différents stades du développement sont repris en sens inverse, c'est-à-dire que les cellules mesodermiques des branchies retournent à l'intérieur du segment et l'épiderme branchial s'intègre à nouveau dans l'épiderme segmentaire.

LITERATUR

Abeloos, M. 1965. *L'histogénèse dans la régénération des vers.* In: *Regeneration in animals and related problems*, pp. 216-227. North-Holl. Publ. Co., Amsterdam.

Beddard, E. 1892. *A new branchiate Oligochaete, Branchiura sowerbyi.* Q. J. microsc. Sci. 33: 325-342.

— 1895. *A monograph of the order Oligochaeta.* Clarendon Press, London.

Boilly, B. 1967. *Etude histologique des premiers stades de l'histogénèse dans la régénération caudale et céphalique chez une annélide polychète (Syllis amica Quatrefages).* Arch. Anat. microsc. 56 (2): 167-204.

HAASE, H. 1898. *Über Regenerationsvorgänge bei Tubifex rivulorum Lam. mit besonderer Berücksichtigung des Darmkanals und Nervensystems.* Z. wiss. Zool. 65 (2): 211-256.

HERLANT-MEEWIS, H. 1964. *Regeneration in Annelids.* In: *Advances in morphogenesis,* 4: 155-215. Acad. Press, New York and London.

KEYL, F. 1913. *Beiträge zur Kenntnis von Branchiura sowerbyi Beddard.* Z. wiss. Zool. 107: 199-308.

KORSCHELT, E. 1927. *Neubildung von Organen und Neoblasten bei den Anneliden.* In: *Regeneration und Transplantation,* 1: 298-308. Borntraeger, Berlin.

KUBLI, E. 1964. *Biologie und Regeneration von Branchiura sowerbyi Beddard.* (Unveröffentl. Semesterarbeit). Zool. Inst., Univ. Zürich.

LEUTERT, R. 1970. *Histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Meiose von Branchiura sowerbyi Beddard.* (Unveröffentl. Diplomarbeit). Zool. Inst., Univ., Zürich.

LIEBMANN, E. 1943. *New light on regeneration of Eisenia foetida.* J. Morph. 73: 583-610.

LINDENMANN, R. 1966. *Bildung und Resorption der Kiemen bei Branchiura sowerbyi Beddard.* (Unveröffentl. Diplomarbeit). Zool. Inst., Univ. Zürich.

MICHAELSEN, W. 1908. *Zur Kenntnis der Tubificiden.* Arch. Naturgesch. 74: 129-162.

NAKAMURA, N. 1940. *Secondary Formation of Gills in Branchiura sowerbyi.* Jap. J. Zool. 9: 195-208.

PANKOW, W. 1969. *Die Embryonalentwicklung von Branchiura sowerbyi Beddard.* (Unveröffentl. Diplomarbeit). Zool. Inst., Univ. Zürich.

ROMEIS, B. 1948. *Mikroskopische Technik,* 15. Auflage. München.

SPENCER, W. P. 1932. *A gilled Oligochaete Branchiura sowerbyi new to America.* Trans. Am. microsc. Soc. 60 (4): 267-272.

STEPHAN-DUBOIS, F. 1952. *Phénomènes de migration dans la régénération de Tubifex tubifex et de Lumbriculus variegatus.* C.R. Séanc. Soc. Biol. 146: 127-131.

— 1953. *Activation et migration des néoblastes dans la régénération caudale de Lumbriculus variegatus à partir d'un territoire sain ou irradié.* C.R. Séanc. Soc. Biol. 147: 887-890.

— 1954. *Les néoblastes dans la régénération postérieure des oligochètes microdriles.* Bull. biol. Fr. Belg. 88: 182-247.